

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XI. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck
in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freuden-
reich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in
Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C.
Potter, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof.
Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr.
Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof.
Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

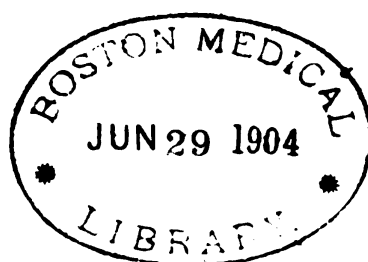
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XI. Band.

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie
und Pflanzenpathologie.**

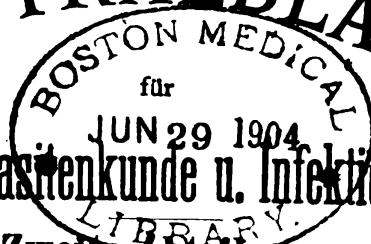
Mit 10 Tafeln und 73 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1904.



8127

CENTRALBLATT



Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U.S.A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3L
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 16. September 1903.

No. 1.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabsätze der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Experiments on Peas in Water Culture.

By John Golding, F. I. C., The Midland Agricultural and Dairy
Institute, Kingston, Derby,

With 4 Figs. in text.

After numerous preliminary experiments the following series
of water cultures were designed to investigate the process of
nitrogen fixation in the root nodules of peas and especially to

Zweite Abt. Bd. XI.

1

confirm the results of Nobbe and Hiltner (*Landw. Versuchs-Stationen*. LII. 1899. p. 455).

It was hoped that the experiments would indicate the conditions under which nitrogen fixation takes place in the nodules of Leguminous plants and thus further renewed attempts to obtain nitrogen fixation under still more artificial conditions in the laboratory without the help of the host plant.

The plan of the experiments was as follows; —

Peas were to be grown in nitrogen-free water culture, manured with an otherwise complete manurial solution. They were to be inoculated with the water extract of a crushed pea nodule so that plenty of nodules should be produced on their roots.

Duplicate cultures were then to be treated in the following ways.

- a) The roots were to be as far as possible covered with water.
- b) Air was to be further excluded by covering the surface of the water with oil.
- c) The nodules were to be exposed; 1) by raising them out of the liquid, 2) by pouring away part of the culture liquid.
- d) The nodules were to be covered and air passed through the culture liquid.
- e) The nodules were to be covered and oxygen passed through the culture liquid.

Eight plants were to be left for comparison without nodules, four without combined nitrogen and four with ammonium nitrate. In two of each of these the roots were to be covered and in two of each the roots were to be exposed.

On Aug. 20th 1902 selected peas (American Wonder pea, height 1 ft, first early), were weighed, the weight varying from 0,286 to 0,230 grams per pea. The peas were then passed through mercuric chloride (1 per 1000) solution, and then through seven washings of sterile cold distilled water and one beaker of water at 50° C.

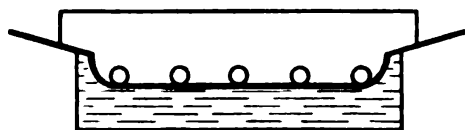


Fig. 1. Large Petri dish and porous plate used for germinating peas.

They were then set to germinate on a sterile porous plate (Fig. 1) over water placed between the top and bottom of a large petri dish. The plate was ruled in squares and each pea was placed on its own number.

The Nitrogen was determined in three peas the mean of the determinations being 3,87 per cent.

When the peas had germinated (Aug. 27th) they were placed in sterile test-tubes containing distilled water and the test-tubes

were covered with brown paper. The peas were held in position by being surrounded with a plug of sterile cotton wool.

On Aug. 29th certain of the tubes were inoculated with 1 ccm of a suspension of a crushed nodule from a pea which was growing well in garden soil. A part of the inoculating liquid was also sterilized by heating it for one hour to 100° C and one cubic centimetre of it was added to each of the remaining tubes; the liquid however only contained 0.33 milligrams of nitrogen per ccm. This inoculating process was repeated again after the plants had been placed in the culture jars viz. on Sept. 8th, the solutions supplying only 0.2 milligrams of nitrogen in this case; the heated liquid was again applied to the other plants.

The plants were placed in honey jars (Fig. 2) provided with a thin flat piece of cork and a screw-down metal top. These tops were punched with three holes, the middle hole was large enough to pass all the roots which had grown in the test-tube while the side holes were just large enough for the bent glass tubes. The glass tubes were plugged with cotton wool.

The corks were bored with three holes of equal size the middle, one being connected with the outside with a cut which made it possible to fix it round the stem of the plant and so hold the latter in position.

The side tubes served to aërate all the liquids at the beginning of the experiments.

The jars were kept throughout the experiment in a sunny greenhouse.

On Sept. 16th the roots to be exposed were lifted out of the water and held in place by a tin which fitted round the neck of the jar and under the metal top. The tin was open down one side and layers of wet sterile blotting paper were fixed round the inside and outside of the tin.

The manurial solutions were made by dissolving the molecular weight of each of the substances used in one litre of water except in the case of the dipotassium phosphate which was a 10% solution.

500 ccm of specially distilled sterile water which was ammonia free by the Nessler's test, was added to each jar.

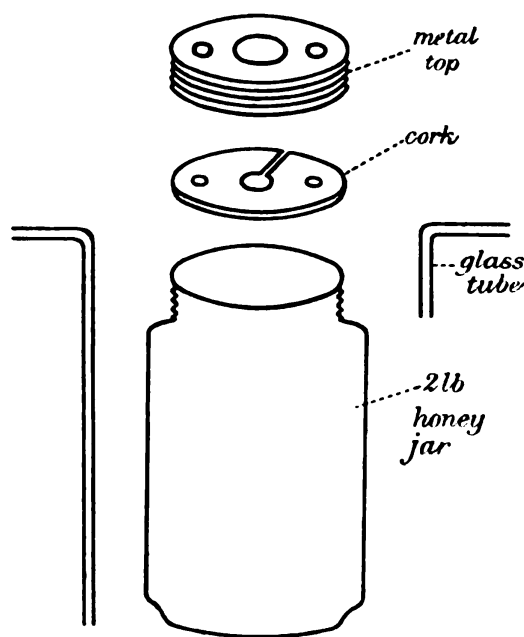


Fig. 2.

The following quantities of the manurial solutions were then added;

2,5 ccm Potassium chloride,
2 ccm Magnesium sulphate,
7,5 ccm Dipotassium phosphate,
2 ccm Calcium chloride.

Traces of Ferrous and Manganese sulphates.

Those plants designed to receive combined nitrogen received in addition 1 ccm of ammonium nitrate solution and another 1 ccm later in the experiment.

The solutions were then heated gently in the steam oven and when hot the jars were transferred to the steam sterilizer and heated to 100° C for about 1 hour.

The manurial solutions which were at first clear, threw down a white precipitate (Tricalcic phosphate), on heating. This heating was proved to be absolutely necessary as the clear solution did not suit the plants. The heating also resterilized the solutions and culture jars after mixing.

Air was passed slowly through jars 9 and 29 and oxygen through jars 10 and 30, over a litre per day being used for each jar.

The treatment, history, and results of the experiments are shown in the following tables and photographs.

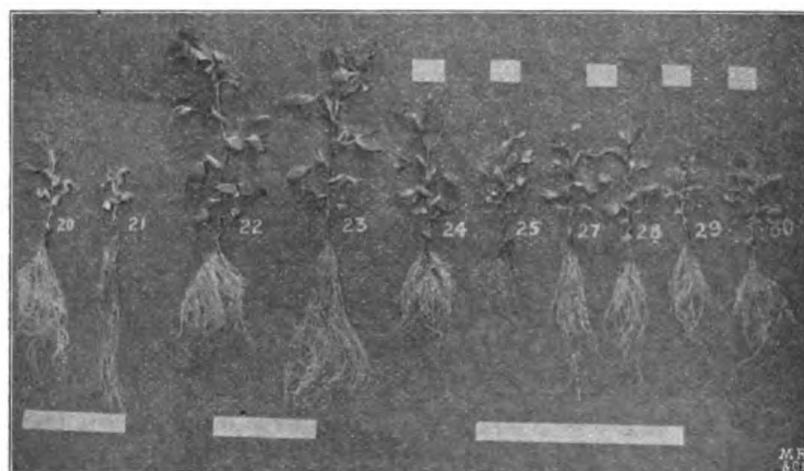
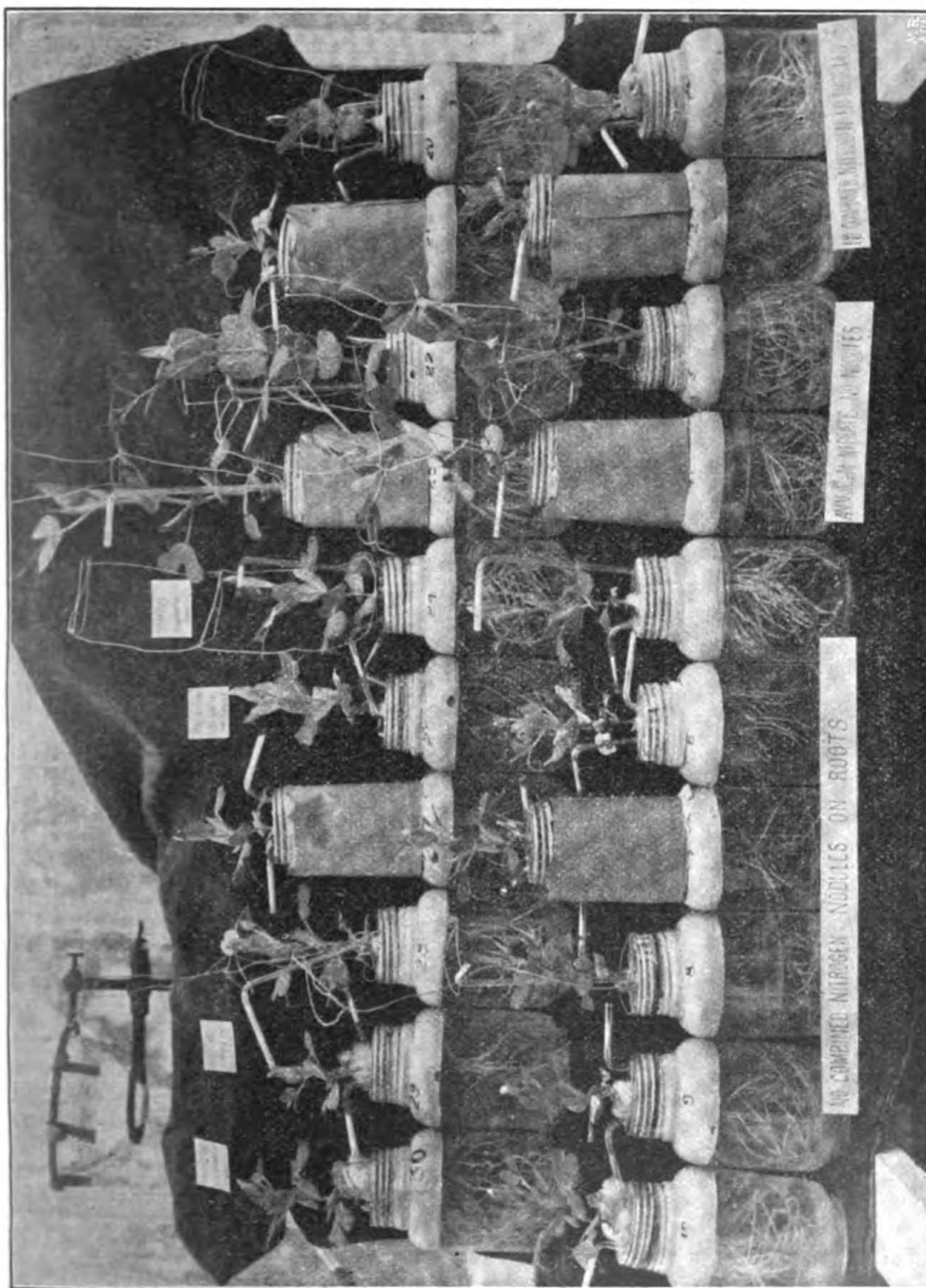


Fig. 3. Plants removed from jars, see table for treatment.

The figures and photographs show that the method of exposing the roots by raising the plants out of water was too drastic and that in the three cases; viz., where the plant was suffering from nitrogen starvation, where nitrogen as ammonium nitrate was supplied and where nodules grew on the roots the plant was checked by this process. In the latter case however considerable nitrogen assimilation took place with a diminution of the non nitrogenous dry matter of the root.

The oil on the surface of the water prevented nitrogen assi-



Jar 30. 20.
Numero 10. 21. 1.
22. 3.
23. 4.
24. 5.
25. 6.
27. 7.
28. 8.
29. 9.

Fig. 4. For treatment see table. The plants in the front row are duplicates of those in the back row.

No. of jar	Date 1902 Scheme of Treatment	Aug. 20 th Wt of Seeds	Aug. 29 th	Sept. 3 rd	Sept. 8 th	Sept. 11 th	Sept. 16 th	Sept. 22 nd Height of plant to growing point in inches	Sept. 30 th plants photo-graphed
1.	Sterile No Nitrates	0.232	1 ccn heated crushed nodule in water	2.5 ccn KCl 2 ccn $MgSO_4$ 7.5 ccn K_2HPO_4 2 ccn $CaCl_2$	1 ccn heated crushed nodule in water	No nodules	transfer lid to tin	2.5	"
20.	"	0.243	"	"	"	"	"	2.5	"
21.	"	0.243	"	"	"	"	"	2.5	"
22.	" Nitrates	0.231	"	+ 1 ccn " NH_4NO_3 "	"	"	"	2.5	"
23.	"	0.249	"	"	"	"	"	4.5	"
24.	"	0.261	"	"	"	"	"	4.3	"
5.	Nodules No Nitrates	0.230	1 ccn crushed nodule	2.5 ccn KCl 2 ccn $MgSO_4$ 7.5 ccn K_2HPO_4 2 ccn $CaCl_2$	1 ccn crushed nodule	nodules showing	lift plant	3.5	"
6.	"	0.273	"	"	"	"	"	3.5	"
25.	"	0.230	"	"	"	"	"	3.5	"
26.	"	0.266	"	"	"	"	"	3.5	"
27.	"	0.262	"	"	"	"	"	2.9	"
28.	"	0.249	"	"	"	"	"	2.9	"
29.	"	0.286	"	"	"	"	"	3.0	"
30.	"	0.250	"	"	"	"	"	3.0	"
9.	"	0.245	"	"	"	"	"	2.9	"
10.	"	0.246	"	"	"	"	"	2.8	"
11.	"	0.270	"	"	"	"	"	3.1	"
12.	"	0.269	"	"	"	"	"	3.2	"

Weight in Milligrams per plant. Mean results.

Jar Numbers	Scheme of treatment			Dry Substance			Nitrogen		
				top	root	total	top	root	total
1, 20.	Sterile	No Nitrates,	roots covered	192	322	514	6,0	6,8	12,8
2, 21.	"	"	" exposed	109	171	280	4,3	5,2	9,5
3, 22.	"	Nitrates	roots covered	855	389	1244	47,1	17,4	64,5
4, 23.	"	"	" exposed	806	419	1225	42,1	17,5	59,6
5, 33, 24.	Nodules	No Nitrates,	roots covered	324	319	643	13,7	10,7	24,4
6, 25.	"	"	roots covered	—	—	—	4,5	4,0	8,5
27.	"	"	oil on surface	—	—	—	—	—	—
8.	"	"	roots exposed	275	277	552	11,3	9,5	20,8
9.	"	"	less liquid	313	275	588	16,2	12,6	28,8
29.	"	"	roots covered	167	211	378	5,1	5,7	10,8
10.	"	"	air passed	—	—	—	—	—	—
30.	"	"	through	263	296	559	8,8	8,9	17,7
			oxygen passed	—	—	—	—	—	—
			through	—	—	—	—	—	—

milation but here also access of oxygen being prevented to the roots, the plant would naturally suffer. The results of Nobbe are confirmed by this experimental jar, but as he only made measurements of his growing plants one cannot compare results very closely.

The jars in which the root nodules were covered with water only, did assimilate nitrogen, the growth was however far behind the cultures supplied with combined nitrogen. This assimilation may have been partly due to the difficulty of keeping the surface nodules under the water. It is significant that the nodules under the water were covered with air bubbles.

It is also worthy of note that in my experiments 2 ccm of a watery extract from crushed nodules were added to each pot but in Nobbes experiments a pure culture of the organism was used for inoculation.

In no case where assimilation of nitrogen took place was the growth comparable to the pots to which combined nitrogen was added. In sand culture however I have found the presence of healthy nodules on the roots to produce growth quite equal to, or better than, completely manured plants of the same kind and age without nodules but this was not the case under the conditions of any of these water cultures.

Nachdruck verboten.

Die Verwendung der biologischen Methode zur Auf- findung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit be- sonderer Berücksichtigung der Wicke.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin. Direktor: Prof.
Dr. L. Pagliani.]

Experimentelle Studien.

Von Dr. E. Bertarelli, Privatdocent.

Im vergangenen November überwies ich der Accademia Medica zu Turin einige Resultate über die Anwendung der biologischen Methode zur Differentialdiagnose der Hülsenfruchtmehle.

Was mich zu diesen Untersuchungen geführt hatte, war nicht nur der Wunsch, zu erfahren, ob die Albumine der Hülsenfrüchte und der ihnen nahestehenden Arten, einmal in den tierischen Organismus eingeführt, die Bildung spezifischer Antikörper erzeugten und dann in den Mischungen eines dieser bestimmten Körper und seines Immunserums ein charakteristisches Präzipitat hervorriefen, sondern, das Verlangen auch zu sehen, ob es möglich sei, die biologische Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Hülsenfruchtmehlspezies zu verwenden unter besonderer Berücksichtigung der Wicke.

Zur Diagnose der Gegenwart von Leguminosen in Mehlen und anderen Lebensmittelprodukten würde das mikroskopische Examen nun tatsächlich genügen; doch gelingt einem damit nur sehr schwer auch die Differenzierung der verschiedenen Leguminosenarten. Die nützlichsten Elemente für die morphologische Prüfung (Kleinstücke, stärkehaltiges Reticulum) fehlen da zuweilen, besonders in einigen speziellen Mehlen, die zu hohen Preisen in Schachteln verkauft werden, unter ganz ungewöhnlichen Namen, oder aber diese Elemente sind manchmal derart verändert, daß das Erkennen der Pflanzenart, von der das Produkt stammt, einfach unmöglich ist. Hierzu kommt nun noch, daß in der letzten Zeit die Verfälschung der verschiedenen Mehle durch Beifügung von Leguminosen (eine Fälschung, auf die neuerdings Sclaro¹⁾ besonders hinwies) ziemlich häufig geworden ist, wonach es somit nützlich erscheinen muß, sichere Mittel zu besitzen, mit denen wir imstande sind, nicht allein die Gegenwart der Leguminosen im allgemeinen festzustellen, sondern auch die Art derselben zu erkennen, dies besonders, um zu sehen, ob es sich um das Vorhandensein der Wicke oder anderer minderwertiger Leguminosen handelt.

Die von anderen ausgeführten Applikationen, welche darauf hinausgingen, für die Pflanzenalbumine präzipitierende Immunsere zu erhalten (Kowarski²⁾, Schütze³⁾, und die kurz angeführten

1) Sclaro, Rendiconti d. R. Accad. dei Fisiocritici 1902.

2) Kowarski, A., Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 27.

3) Schütze, A., Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt. Vol. XXVIII. 1901.

Versuche Ottolenghis¹⁾ stellten die Möglichkeit in Aussicht für die unter sich nicht sehr ähnlichen Leguminosengruppen spezifisch reagierende Sera zu erhalten.

Tatsächlich ist mir dies nun auch bereits seit Oktober 1902 für die Erbsen, Bohnen, Pferdebohnen und Linsen gelungen. Nachdem diese Versuche zu Ende geführt sind, gebe ich hier ausführlich die darauf bezüglichen Daten wieder.

Zu den erwähnten Experimenten dienten Kaninchen, und zwar immer nur kräftige (2 kg) Tiere, da die Wirkung der applizierten subkutanen und endovenösen Injektionen für die meisten Tiere alles andere eher als indifferent war.

Selbstverständlich wurden nach dem Beispiel anderer Forscher alle Versuchsmaßregeln verwandt, um Verwechselungen zu vermeiden, die sehr leicht eintreten, wo es sich um eine Arbeit mit vielen Tieren und den verschiedensten Produkten handelt. Zum Schutze gegen jeden Irrtum habe ich auf Grund der Vorsichtsnormen experimentiert, die Kister und Wolff²⁾ in ihrer Studie über die serodiagnostischen Untersuchungen des Blutes empfehlen.

Zu den Versuchen wurden folgende Leguminosen herangezogen: Einheimische Bohne (*Phaseolus vulgaris*) weiß, Erbse (*Pisum sativum*), Linse (*Vicia lens*) und Futterwicke (*Vicia sativa*).

Die Inokulation der Stoffe geschah in verschiedener Weise. Bald benutzte ich die nach den Indikationen Kowarskis erhaltenen Albumosen; bald injizierte ich (in physiologischer Lösung) den aus den Mehlen der verschiedenen Leguminosen kalt erhaltenen Aufguß, in einzelnen Fällen auch die in physiologischer Lösung fein emulsierten Mehle selbst. Doch ist die massive Uebertragung der Mehle gefährlich und bewirkt Abscesse und rasches, schweres Hinschwinden der Tiere, der einfache Aufguß dagegen oder die nach den Angaben Kowarskis präparierten Albumosen leisten gute Dienste. Nur muß man darauf bedacht sein, die Proportionen zwischen den Mehlen einiger Leguminosen und der physiologischen zur Präparation des daraufhin zu inokulierenden Materials dienenden Lösung zu modifizieren. Denn folgt man tatsächlich den Vorschriften Kowarskis (der auf 50 g Mehl 150 g physiologische Lösung gab), so gelingt es nicht, ansehnliche Quantitäten Flüssigkeit zu filtrieren. Aus diesem Grunde habe ich die zur Präparation der Aufgüsse dienende Lösung quantitativ verändert, je nach der Natur der verwandten Stoffe, wobei ich z. B. für die Bohne mehr und für die Wicke weniger gebrauchte. Auch ist es nicht zweckentsprechend, bei der Filtration zu sehr auf Klarheit der erhaltenen Flüssigkeiten zu sehen, denn dazu ist sehr viel Zeit erforderlich und es besteht gleichzeitig die Gefahr, daß sich das Material in der Zwischenzeit verändert und dann erwächst daraus auch nicht der geringste praktische Vorteil. Ich begnügte mich also mit einer doppelten Filtration

1) Ottolenghi, D., Atti d. R. Accad. d. Fisiocritici. Siena 1902.

2) Kister u. Wolff, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Vol. XLI. Fasc. 3.

durch einfachen Filter und bei der Bohne mit einer einfachen Filtration.

Um nun jeder Art von Irrtum vorzubeugen, habe ich die zu den Experimenten erforderlichen Mehle persönlich präpariert und dabei immer dasselbe Material verwandt; die Inokulationen wurden ebenso stets mit frisch zubereiteten Lösungen ausgeführt.

Vorzuziehen ist für die Injektionen der subkutane und endovenöse Weg. Dieser letzte ist nicht ungefährlich, da einige Aufgüsse eine Art koagulierender Wirkung zu besitzen scheinen, weshalb es also nicht selten vorkommt, daß die Tiere nach der Inokulation jäh verenden. Besonders nach Bohnen trat dieser Fall mit einer gewissen Regelmäßigkeit ein, so daß ich mich gezwungen sah, diesen Inokulationsweg absolut aufzugeben.

Die Quantität des zu injizierenden Materials schwankte je nach dem Gewicht des Tieres und der Konzentrierung des Aufgusses. Meist inokulierte ich 6—8 ccm der Aufgüsse in die Venen, subkutan gelangte ich bis zu 10 ccm.

Gleichviel nun, welches auch die Art des injizierten Materials sei, reagieren die Tiere auf die Inokulation ganz bedeutend; somit ist es also unbegreiflich, wie einige Autoren glauben lassen können, daß die Tiere dieselbe ziemlich gut vertragen und nur mit vorübergehender Abmagerung. Viele Tiere, und besonders die nicht sehr robusten starben nach 2 oder 3 Wochen an Marasmus¹⁾.

Doch auch bei jenen Tieren, die die Impfungen gut vertragen, läßt sich im allgemeinen ein ziemlich starkes Abmagern feststellen, während man bei Aderlässen mit bemerkenswerter Regelmäßigkeit konstatieren kann, daß das Blut ziemlich schlecht Serum absondert und eine reichliche Kötense erzeugt, teils infolge hinzugetretener Anämie, teils anderer Veränderungen des Blutplasmas wegen. Nur wenige Tiere resistieren gut und geben nach der immunisatorischen Behandlung eine reichliche Quantität von Serum ab.

Auch das Auftreten spezifischer Antikörper, und daher — was uns hier in höherem Grade interessiert — die Möglichkeit, ein reagierendes präzipitierendes Serum zu erhalten, ist je nach den Tieren, dem verwandten Material und der injizierten Quantität verschieden.

Bei den nachstehend angeführten Daten werde ich Gelegenheit haben, auf diese Tatsache zurückzukommen. Hier sei nur daran erinnert, daß nicht 6—8 Wochen nötig sind, um spezifische Sera zu erhalten und daß man mit reichlichen und alle 3 Tage wiederholten Inokulationen (wenigstens für einige Stoffe) Immunserum erhalten kann, das auch mit Spuren des bei der Immunisation gebrauchten Materials schon nach 15—20 tägiger Behandlung reagiert. Zweifellos ist die Reaktion nach 5—6 Wochen sensibler, während eine rapide Behandlung die Tiere viel leichter dem Tode aussetzt.

Die Proben mit dem Serum wurden in der gewöhnlichen

1) Mit Albumosen von Getreidemehlen zeigt sich die Reaktion bei den Tieren in viel schwächerer Form, dagegen scheint es mir, nach einigen Proben zu urteilen, bedeutend schwieriger zu sein, mit Getreidemehlen ein aktives Immunserum zu erhalten.

Weise vorgenommen. Wir präparierten von den verschiedenen herangezogenen Leguminosen einige andere, weniger oft gebrauchte (gelbe Erbsen) Aufgüsse in physiologischer Lösung. Zu diesem Zwecke wurden 100 g physiologischer Lösung mit 25 g Mehl vermischt; die Mischung blieb 1 Stunde ruhig stehen, die abgeseonderte Flüssigkeit wurde im Wasserbade bis zur Koagulation des Albumins erhitzt und dann bis zur vollständigen Klarheit filtriert. Tatsächlich kann man zur Probe aber auch den kalt erhaltenen Aufguß verwenden, ohne das koagulierbare Albumin zu fällen. In den angestellten Vergleichsproben hat es sich herausgestellt, daß die Resultate auf beide Arten wenig verschieden sind.

Die erhaltene Flüssigkeit stellte eine Verdünnung der Albumosen der einzelnen in Prüfung befindlichen Leguminosen von 1:4 dar, und mit diesem Liquid wurden dann weitere Verdünnungen vorgenommen bis zu 1:10000. Auf diese Weise präparierten wir Verdünnungsreihen der verschiedenen Albumosen, hielten nebenbei aber auch noch Albumosenlösungen von Getreide zur Kontrolle und brachten zwecks Serumreaktionen von jeder Verdünnung 1 ccm in eine Reagenzröhre. Sodann wurden jeder Röhre 1,5 ccm des in Prüfung befindlichen immunen Serums hinzugefügt. Es sei hier noch besonders bemerkt, daß die Proben sich auf Verdünnungsreihen mit ziemlich weiten Zwischenabständen beschränkten, da es nur sehr selten gelungen ist, bei Kaninchen 25—35 ccm Serum zu erhalten, selbst wenn ich dieselben preisgab. Somit beziehen sich also die in meiner Arbeit angeführten Daten auf die nach verschiedenen Proben bei verschiedenen Tieren erhaltenen Durchschnittswerte.

Die Reagenzröhren blieben 2 Stunden lang bei 37° Hitze unter steter Beobachtung, wobei wir auch das eventuelle Verschwinden des charakteristischen Krauseschen Niederschlags verifizierten.

Bevor ich aber zu den eigentlichen Untersuchungen schritt, beobachtete ich noch, ob das Serum verschiedener normaler Kaninchen eventuell mit den Albumosen der verschiedenen Leguminosen Präzipitine abgäbe. Die Ergebnisse einiger Bestimmungen sind hier zusammengefaßt:

Bohnen liefern nur dann einen Niederschlag, wenn Material in einer Verdünnung von 1:50 verwandt wird; in stärkeren Verdünnungen kann man bisweilen eine Trübung der Mischung beobachten, aber keinen Niederschlag.

Mit Pferdebohnen erzielt man nur bis zur Verdünnung von 1:20 einen Niederschlag. Gewöhnlich aber erreicht man diese Grenze mit dem Serum der meisten Kaninchen nicht.

Die Linsen geben mit Verdünnungen über 1:15 niemals Niederschlag.

Die Wicken dagegen liefern einen solchen nur mit Verdünnungen bis zu 1:10.

Die Niederschläge erscheinen schon während der ersten halben Stunde unter 37° Hitze infolge der stärkeren Konzentrierung; erst nach 1½ Stunden aber mit schwächeren Verdünnungen; die Beobachtung wurde immer nach 2 stündiger Exposition im Brutschranke ausgesetzt.

- Im ganzen genommen konnten die Aufgüsse dieser Leguminosen nur bei bedeutender Konzentrierung Niederschläge abgeben, niemals aber, selbst nicht unter den günstigsten Voraussetzungen, in Verdünnungen über 1:50.

Alle zum Versuche herangezogenen Leguminosen haben in den mit den entsprechenden Albumosen geimpften Kaninchen das Auftreten spezifischer, präzipitierender Substanzen bedingt.

Nicht alle aber verhalten sich in derselben Weise. Denn schon in verschiedenen Tieren existieren individuelle Verschiedenheiten, und gerade so wie einige Kaninchen die Einimpfung der Aufgüsse ziemlich gut vertragen, während andere sofort nach den ersten Injektionen stark abmagern, ist auch das Serum einiger Tiere bei gleichdauernder Behandlung unter denselben Verhältnissen viel sensibler als das anderer Tiere.

Bei diesen Untersuchungen wurden die Tiere regelmäßig alle 3 Tage inokuliert; nur mit sehr starken Tieren habe ich eine raschere Behandlung mit Impfungen an jedem 2. Tage gewagt. Die dabei erhaltenen Ergebnisse gebe ich in kurzgefaßter Form nachstehend:

Bohnen: Das aus den behandelten Tieren gewonnene Serum gibt einen spezifischen Niederschlag mit Bohnenaufguß meist bis zu Verdünnungen von 1:3000. Nur in einem Falle wurde diese Grenze überschritten. Bei solcher Verdünnung erscheint der Niederschlag jedoch spärlich und zwar nur nach $1\frac{1}{2}$ —2 stündigem Verweilen im Ofen.

Reichlich ist der Niederschlag dagegen immer und rapid in seiner Bildung bei Verdünnungen von 1:300, 1:600; bei solchen von 1:4000 hat man meistens nur Trübung ohne Niederschlag.

Mit Albumosen anderer Leguminosen und Immunserum von Bohnen kann man auch für stark konzentrierte Verdünnungen (Erbse 1:60, Pferdebohne 1:100 etc.) Präzipitat erhalten. In jedem Falle kann man mit Verdünnungen über 1:150 niemals weder ein Präzipitat noch eine sehr reichliche Trübung erhalten. Mit Wickeaufguß besonders erhält man den Niederschlag nur mit stark konzentrierten Aufgüssen.

Mit Erbsen hat man einen spezifischen Niederschlag bis zu Verdünnungen von 1:4000; eine höhere Sensibilität zu erlangen, ist möglich, doch ist dann die Reaktion ziemlich spärlich und erfolgt erst in der 3. Stunde, wodurch sich leicht Fehler einschleichen.

Mit Aufgüssen anderer Leguminosen bildet sich der Niederschlag innerhalb niedriger Grenzen, mit Bohnenaufguß bei 1:200, mit Wickeaufguß bei 1:50 etc.

Die Linsen geben ein sehr sensibles Immunserum; eine Reaktion tritt ein bis zu 1:5000, jedenfalls aber ist sie noch deutlich genug bei 1:3000. Das Immunserum liefert außerdem Niederschlag mit Aufguß von Bohnen bei 1:300, 1:400; mit solchen von Erbsen bei 1:300; bei Wickeaufguß tritt die positive Reaktion erst bei 1:100 ein.

Das Immunserum der Pferdebohnen ist ebenfalls sehr empfindlich, die Aufgüsse dieser Leguminosen erzeugen bei Inokulation äußerst wenige Uebelstände. Das typische Präzipitat ist immer vorhanden, auch mit Verdünnungen von 1:4000.

Die Albumosen der anderen Leguminosen reagieren nicht bei Verdünnungen unter 1:300; die Wicke bleibt niederschlagslos über 1:100.

Mit Wicke wurden an zahlreichen Tieren Versuche angestellt, wobei die Kaninchen, wenn man die Ueberimpfungen in die Blutbahn machte, gleich von Anfang an in alarmierender Weise abmagerten; nach einigen Wochen sind sie imstande, auch 6—8 ccm des Aufgusses leidlich zu vertragen.

Diesem Materiale gegenüber äußert sich das Präzipitationsvermögen im Serum der behandelten Tiere ziemlich spät, nicht vor 6—7 Wochen, zuweilen selbst erst nach 9 Wochen, was durch den spärlichen Albumosengehalt des zu den Injektionen verwandten Materials bedingt ist.

Das Immunserum liefert deutlich wahrnehmbaren Niederschlag auch bei 1:3000 und nach 1stündigem Verweilen im Ofen. Mit Erbsen- und Linsenaufgüssen erhält man bei 1:300 ein Präzipitat, nicht mehr jedoch bei 1:500. Mit Aufgüssen von gelben Erbsen, Bohnen, Pferdebohnen hört jeder Niederschlag bei Verdünnungen über 1:200 auf.

Aus den vorerwähnten kurzgefaßten Daten ergibt sich also vor allem, daß die verschiedenen verwandten Leguminosen spezifische, präzipitierende Immunsera abgeben können; dann, daß die Verdünnung, bei der die Aufgüsse im allgemeinen noch klar reagieren, wenig über der höchsten Grenze 1:3000 ist, mit kleinen Sensibilitätsvariationen, je nach den verschiedenen Stoffen, und daß schließlich der Niederschlag im Durchschnitt nur dann einen absoluten spezifischen Wert besitzt, wenn man ihn mit 1:500 übersteigenden Verdünnungen erhält.

Diese Zahlen stellen natürlich Durchschnittswerte dar, denn mit sehr starken Tieren kann die Immunisation bisweilen nicht unbedeutend höhere Werte erreichen, im allgemeinen aber bleiben die Durchschnittsergebnisse auch bei Ausdehnung der Behandlung innerhalb der gegebenen Grenzen¹⁾.

Angesichts einer möglichen praktischen Verwendung der Methode ist es wohl von besonderem Interesse, einige Fragen zu lösen, die sich auf die Zeit beziehen, die notwendig ist, um die Tiere derart zu immunisieren, daß man ein präzipitierendes Serum erhält, und auf die Spezifitätsgrenze in Beziehung zu den Abarten (in unserem Falle in Beziehung zu den verschiedenen Sorten Wicke, Bohne etc.).

(Schluß folgt.)

1) In einer früheren Arbeit finden sich nun gerade höhere Werte. Nachdem ich nun aber an ca. 80 Tieren Versuche angestellt habe, muß ich zugeben, daß die mit meinen ersten Versuchen erhaltenen Ziffern, die ich mit starkdosigen Injektionen und mit dem Verluste vieler Tiere erhielt, nicht diejenigen Werte darstellen, die man bei fast allen Experimenten erhält.

Referate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewebe, Berlin.

Schönfeld, F., „Kochende“ Gärung bei Berliner Weißbier. Eine Folge von Verwendung von forciertem Weizenmalze. (Wochenschrift für Brauerei. Bd. XX. No. 26. p. 301—303.)

Eine bei Untergärung sehr selten, bei Obergärung und speziell bei der Bereitung des Berliner Weißbieres häufiger auftretende Gärungsform ist die kochende Gärung. Charakteristisch für diese Gärungsform ist das Fehlen einer Schaumdecke, trotz intensiver Hefetätigkeit steht das Bier kahl da, infolge der massenhaft entweichenden Kohlensäure in lebhafter kochender, brodelnder Bewegung. Mit dem Beginn des Hefenauftriebes hören diese abnormen Erscheinungen auf, es tritt Deckenbildung wie bei normal verlaufener Gärung ein, das erhaltene Bier aber hat in seinen Eigenschaften erhebliche Aenderungen erfahren, vor allem fehlt ihm jegliche Schaumhaltigkeit. Verf. ist der Ansicht, daß die bei der kochenden Gärung zu beobachtende mangelhafte Schaumhaltigkeit auf einen zu weit gehenden Abbau der Eiweißstoffe des Malzes zurückzuführen sei, ein Abbau, der durch zu lebhafte Wirkung der proteolytischen Malzenzyme bewirkt wurde. Tritt diese Wirkung erst beim Maischprozeß ein, so läßt sich ihr durch Aenderung des Maischverfahrens: Abkürzen der Maischdauer und Erhöhen der Einmaischtemperatur begegnen. Ist dagegen der Abbau bereits im Malz selbst erfolgt, wie das bei forcierten Malzen der Fall ist, so bleiben solche Aenderungen ohne Erfolg. Verf. gibt schließlich analytische Daten über die Untersuchung zweier Malze aus einer Brauerei, deren eines normale Gärung, deren anderes regelmäßig kochende Gärung ergab. Die Zahlen zeigen sehr deutlich, daß das Malz, bei dessen Verwendung sich kochende Gärung einstellte, ein forciertes war, es war wesentlich reicher an vorgebildetem Zucker, gab an kaltes Wasser beträchtlich mehr lösliches Extrakt ab und vor allem fand sich im Kaltwasserauszug erheblich mehr löslicher Stickstoff als bei dem Malz, das normale Gärung verursachte. Diese Befunde bestätigen die in Fachkreisen bereits vertretene Ansicht, daß sich zur Weißbierbrauerei nur ein kühl und kurz geführtes Weizenmalz eignet. Mohr (Berlin).

Schönfeld, F., Einige Beobachtungen aus der Praxis über die Quellen wilder Hefeninfektionen. (Wochenschrift für Brauerei. Bd. XX. No. 27. p. 313—316.)

Verf. schildert in dem Artikel einige von ihm in der Praxis beobachtete Fälle von Infektionen durch wilde Hefen, bei denen die Infektion nicht, wie sonst häufig, von weißen, z. B. durch in der Nähe befindliche Obstpflanzungen, Gerbereien oder ähnliche industrielle Betriebe verursacht wurden, sondern bei denen die Quellen

in den Brauereien selbst lagen und die charakteristische Beispiele für die ununterbrochene Fortschleppung der Infektion in der Brauerei boten. So ging z. B. in einer Brauerei der Weg zum Gärkeller von der Schwankhalle durch den Würzekühlraum, in dem sich der Berieselungskühler befand. Die Infektionsträger waren die leeren, von der Kundschaft zurückgesandten Transportfässer. Die darin enthaltenen Bierreste wimmeln von wilden Hefen, durch das Auslaufen der Reste gelangen sie auf den Fußboden der Schwankhalle und wurden durch das aus- und eingesandte Personal durch die Schuhe in Kühl- und Gärraum übertragen, direkt vom Boden entnommene Präparate zeigten massenhaft wilde Hefen, ohne daß erst Kulturen angefertigt zu werden brauchten.

Eine andere häufiger beobachtete Infektionsquelle stellten die Gärbottiche selbst dar, deren Holz unten am Boden, auch wenn die Seitendauben noch hart und fest waren, stark mürbe geworden und mit geradezu kolossalen Mengen wilder Hefen durchsetzt war. In diesem Fall war auch die Anwendung von Desinfektionsmitteln wie Antiformin ohne gewünschte Wirkung, augenscheinlich weil das Mittel nicht tief genug eindrang. Erfolg hatte nur das Aushebeln bis auf das gesunde Holz und frisches Lackieren der abgehobelten Stellen. Eine analoge Infektionsquelle wurde ebenfalls häufiger in den Gummischeiben der Flaschen mit Patentverschluß gefunden, in rissig gewordenen Scheiben setzten sich die wilden Hefen fest und infizierten das frische, auf Flaschen gefüllte Bier, so daß es sich dringend empfiehlt, brüchige und defekte Gummischeiben zu beseitigen, die Reinigung der anderen durch möglichst heißes Wasser zu bewirken.

Mohr (Berlin).

Referate.

Bokorny, Th., Können einzelne physiologisch wichtige Aschenbestandteile des Organismus durch andere, chemisch ähnliche, Elemente ersetzt werden? (Pflüg. Arch. d. ges. Physiol. 1903. Juli.)

Kann das Kalium durch Rubidium, das Calcium oder Magnesium durch Baryum oder Strontium, das Magnesium durch Calcium etc. ersetzt werden? Diese Fragen wurden zuerst von Naegeli aufgeworfen und an Pilzen untersucht; auf Grund der Versuche wurde dann eine Ersetzbarkeit faktisch angenommen, bis weitere Untersuchungen wieder Zweifel daran aufkommen ließen.

Eigentlich lehnt sich vorneherein das Empfinden gegen eine solche Annahme auf.

Denn wie soll in dem so genau abgepaßten Mechanismus des Protoplasmas ein Teil ohne Schaden weggenommen und durch einen anderen nicht genau gleichen ersetzt werden können? Wenn in einem Uhrwerk, dessen Zusammensetzung gegen die das Zellorganismus noch einfach erscheint, nur ein Rädchen oder ein Zäpf-

chen gegen ein anderes von nicht genau gleicher Größe und Konstruktion ausgetauscht wird, so geht die Maschine nicht mehr. Beim Protoplasma soll nun eine große Anzahl von Molekülen durch andere von ungleicher Beschaffenheit ersetzt werden können? Denn, daß z. B. die kaliumhaltigen organischen Moleküle (Kaliumweißmoleküle?) in einer Zelle viele sind und an verschiedenen Stellen placent sind, unterliegt keinem Zweifel. Mit dem Ersatz einiger dieser Moleküle durch andersartige (durch Rubidiumweißmoleküle) mag vielleicht die Zelle noch nicht gefährdet sein, wohl aber durch das Auftreten vieler solcher.

Ferner müssen wir fragen, ob denn die Unterschiede zwischen Kalium und Rubidium und Cäsium wirklich so geringfügig sind, ob sie zwischen Calcium, Baryum, Strontium und Magnesium nicht geradezu die Annahme eines physiologischen Füreinandereintretens verbieten.

Kalium, Rubidium und Cäsium gehören zwar zu einer Gruppe innerhalb der Alkalimetalle zusammen. Doch unterscheiden sie sich wesentlich durch ihr Flammenspektrum (Caesium hat 2 intensiv himmelblaue Linien, Rubidium 2 dunkelrote und 2 violette, Kalium 1 rote und 1 violette). Das Atomgewicht des Kaliums beträgt 39,03, das des Rubidiums 85, des Cäsiums 135. Die Löslichkeit einiger Salze ist verschieden; Cäsium und Rubium sind schwerer als Wasser etc.

Noch größer sind die Unterschiede zwischen den Erdalkalimetallen. Besonders das Magnesium steht weit ab von den übrigen und wird gegenwärtig zu der Gruppe Beryllium-Zink-Kadmium gerechnet.

Durch Molisch wurde bei Schimmel, durch A. Mayer an Hefe gezeigt, daß von einer Entbehrlichkeit des Magnesiums nicht die Rede sein könne; es kann auch nicht ersetzt werden.

Des Verf. eigene Erfahrungen sind folgende:

Es wurden folgende Mischungen gemacht:

I.		II.
Wasser (Aq. dest.)	500 g	Wie I, aber nach 48stündigem Stehen
Pepton	0,5 "	die auf dem Filter gesammelte Hefe
Rohrzucker	0,5 "	nochmals mit frischer Lösung der-
Monokaliphosphat	0,5 "	selben Art aufgestellt. Nach weite-
Calciumchlorid	0,25 "	ren 2 Tagen dann Trockensubstanz
Bittersalz	0,25 "	der Hefe bestimmt.
Spur Eisenchlorid		
Hefe	1 "	
Nach 48stündigem Stehen bei 27° C		
Hefetrockensubstanz bestimmt.		
III.		IV.
Wasser (Aq. dest.)	500 g	Wie III, aber nach 48stündigem Stehen
Pepton	0,5 "	die auf einem Filter gesammelte Hefe
Rohrzucker	5 "	nochmals mit frischer Lösung der-
Monokaliumphosphat	0,5 "	selben Art aufgestellt. Nach weite-
Calciumsalz	keines	ren 2 Tagen Hefetrockensubstanz be-
Bittersalz	0,25 g	stimmt.
Chlorkalium	0,25 "	
Spur Eisenchlorid		
Hefe	1 "	
Nach 45stündigem Stehen bei 27° C		
Hefetrockensubstanz bestimmt.		

V.		VI.
Wasser (aq. dest.)	500 g	Wie V, aber nach 45stündigem Stehen
Pepton	0,5 „	die auf einem Filter gesammelte Hefe
Rohrzucker	5 „	nochmals mit frischer Lösung der-
Monokaliumphosphat	0,5 „	selben Art aufgestellt. Nach weite-
Calciumchlorid	0,25 „	ren 2 Tagen Hefetrockensubstanz be-
Kaliumsulfat	0,25 „	stimmt.
Magnesiumsalz	keines	
Spur Eisenchlorid		
Hefe	1 g	
Nach 45stündigem Stehen bei 27° C		
Hefetrockensubstanz bestimmt.		

Versuch		Trockensubstanz
I (mit Ca u. Mg) ergab		0,14 g
„ II (mit Ca u. Mg, nach 2maliger Ernährung)		verunglückt
„ III (ohne Calcium)		0,42 g
„ IV (ohne Calcium, nach 2maliger Ernährung)		verunglückt
„ V (ohne Magnesium)		0,32 g
„ VI (ohne Magnesium, nach 2maliger Ernährung)		verunglückt

Die Versuchsreihe, welche aus den Versuchen II, IV und VI bestand, ging leider durch ein Versehen verloren.

Aber schon aus I, III und V geht deutlich hervor, daß ohne Magnesium eine Ernährung und damit Trockensubstanzvermehrung nicht eintritt; denn 0,32 g betrug die Trockensubstanz von 1 g Preßhefe schon von vornherein.

Da sämtliche 6 Versuche mit der gleichen Preßhefe und im selben Vegetationskasten angestellt wurden, so sind die erhaltenen Zahlen beweisend, d. h. die Differenz kann nur auf den Mg-Mangel zurückgeführt werden, da alle anderen Umstände gleich waren.

Zwischen I und III zeigte sich nur ein kleiner Unterschied, und zwar zu Gunsten des Ca und Mg haltenden Versuches.

Nach den Erfahrungen der Praktiker, insbesondere der Bierbrauer, ist das Ca nicht entbehrlich. Denn kalkarme Würzen und Maischen liefern eine sehr schlechte Vergärung.

Lafar sagt hierüber (Technische Mykologie. Bd. II. p. 530): „Im Hinblick darauf wird man den Satz von der Entbehrlichkeit des Calciums dahin abändern müssen, daß man, solange es sich nur um ein bloßes Hefenwachstum handelt, den Kalk zwar als entbehrlichen Nährstoff ansieht, daß man aber dieses Element zugleich als einen unerläßlichen Reizstoff oder Hilfsstoff gelten läßt, sobald auf die Gärstätigkeit der Hefen das Hauptgewicht gelegt wird. Es ist noch unbekannt und würde ein Gegenstand sehr erwünschter und voraussichtlich nicht undankbarer Forschung sein, die Rolle klarzulegen, welche der Kalk hierbei spielt. Vielleicht versteht er die Aufgabe, die giftige Oxalsäure zu binden und unschädlich zu machen, welche als gemeines und in großen Mengen auftretendes Endprodukt des Stoffwechsels bei vielen Pilzen, so z. B. bei *Aspergillus glaucus*, *A. niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens*, *Peziza Fuckeliana* u. a. durch C. Wehmer nachgewiesen worden ist und bei diesen allen vielleicht durch das Magnesium allein unschädlich gemacht werden kann, bei der Hefe indessen,

bei welcher sie infolge der hier viel heftigeren Gärtätigkeit und Stoffumsetzung in viel größeren Mengen entstehen mag, mit jener Base allein nicht mehr das Auslangen findet. Eine sorgfältigere (aber, soviel mir bekannt, bisher noch nicht unternommene) Untersuchung über das allmähliche Anwachsen der Oxalsäure während der Gärung der Bierwürze und die Feststellung der Art der Base (bezw. der Basen), an welche diese Säuren gebunden ist, wird uns hoffentlich in der Beantwortung der Frage nach der Bedeutsamkeit des Kalkes für die Hefe um einen Schritt näher bringen.

„Die Brauer sind, wie schon gesagt, in der auf vielfältige Erfahrung gestützten Behauptung einig, daß eine Hefe, welche in kalkarmer Würze gezüchtet wird, rasch entartet, insbesondere keinen „Bruch“ mehr gibt. Unter jener Mißlichkeit leiden solche Brauereien häufig, welche mit einem sehr weichen (also kalkarmen) Wasser zu arbeiten gezwungen sind. Es ist dort ein alter und einfacher Kunstgriff, um diesen Mangel wett zu machen: man wirft in das Maischwasser ein paar Löffel gepulverten (ungebrannten!) Gipses, etwa 10 g auf den hl Würze. Der Erfolg ist ganz auffallend zufriedenstellend: hohe Kräusen, gute Vergärung und schöner Bruch und feste Satzhefe; letzteres unter der Voraussetzung, daß solches überhaupt im Charakter der verwendeten Hefe liegt. Wir verdanken H. Seyffert einen hübschen Beleg dafür, welcher eine Petersburger Brauerei betrifft, deren Wasser in 100000 Teilen nur 1,3 Teile CaO aufweist. Dort konnte man mit einer Reihe von Reinhefestämmen, welche aus Deutschland bezogen worden waren, durchaus nicht entsprechende Vergärungen erhalten und verfiel endlich, nach vergeblichem Suchen, auf den Gedanken, die Würze zu untersuchen, welche dann als zu wenig kalkhaltig befunden wurde. Die darin gezüchteten Hefen verarmten so immer mehr an Kalk. Sie waren geradezu hungrig nach Kalk und zogen davon selbst jene geringen Mengen an sich, welche ihnen das Wasser, in dem sie gewaschen wurden, zu bieten vermochte.“

(Siehe Tabelle p. 19.)

Wenn der Kalkmangel im Wasser also bei oft wiederholter Aufzucht von Hefe in Würzen, die mit sehr kalkarmem Wasser hergestellt sind, sich geltend macht durch veränderte Aschenzusammensetzung der gezogenen Hefe und durch Entartung der Hefe, so kann der Kalk nicht mehr als gleichgültig angesehen werden; er zählt zu den notwendigen Bestandteilen, wenn auch eine sehr geringe Menge ausreichen mag.

Solche oft wiederholte Züchtungen wären auch bei anderen Pilzen zu machen, bei denen bis jetzt der Kalk als entbehrlich angesehen wird.

Es ist auch gar nicht einzusehen, warum der Kalk gerade für diese eine Gruppe von Organismen, die Pilze, ganz überflüssig sein soll, während sonst seine Notwendigkeit bei allen Pflanzen als ausgemacht gilt.

Analysenmaterial	Aschengehalt des Trocken- rückstandes	Prozentische Zusammensetzung der Asche									
		K ₂ O	Na ₂ O	CaO	MgO	Fe ₂ O ₃	CuO	P ₂ O ₅	SO ₂	SiO ₂	Cl
Bayrische Würze nach Lintner		41,20	0,03	4,50	2,20	—	—	35,50	Spur	20,40	Spur
Petersburger helle Würze nach Seyffert	0,24	32,99	1,60	1,63	9,21	0,44	—	45,78	0,32	6,88	0,10
Hefe A.											
1. Gerade aus Deutschland bezogen	9,71	32,66	0,59	4,48	4,94	0,05	—	55,75	Spur	0,51	0,11
2. Nach 7 Gängen im Betriebe	68,94	35,22	—	0,54	5,25	0,45	—	56,75	Spur	1,22	Spur
3. Reinzucht schwach gewässert	7,56	34,92	—	0,83	5,25	0,29	0,64	56,86	Spur	0,80	Spur
4. Desgl., stark gewässert	7,65	31,87	0,07	1,48	5,47	0,42	0,37	58,88	Spur	0,98	Spur
Hefe B.											
1. Reinzucht, das 1. mal im Betriebe gewesen in gegipster Würze; stark gewässert	6,82	31,76	Spur	3,68	5,38	0,15	0,27	57,67	Spur	0,62	Spur
2. Nach 2 Gängen in nichtgegipster Würze; stark gewässert	5,01	29,06	0,14	2,42	5,70	1,21	0,38	60,30	Spur	1,21	Spur

O. Loew nimmt an, daß der Kern der Hefepilze wesentlich von anderer Beschaffenheit ist als bei den übrigen Organismen, weil früher von ihm eine Beziehung des Kalkes zur Kernsubstanz der Pflanzen erkannt wurde.

Doch dürfte diese Annahme zu gewagt sein. Wenn die Kernteilungsvorgänge im ganzen organischen Reich als wesentlich übereinstimmend erkannt wurden, so wird wohl auch die Kernsubstanz größtenteils übereinstimmen, und der Hefekern keine so fundamentale Abweichung zeigen.

Näher liegt ein anderer Schluß! Zwischen den Pilzen und dem übrigen Pflanzenreich besteht kein anderer durchgreifender Unterschied als der des Chlorophyllmangels bei den ersteren. Manche Pilze stehen gewissen Algen nach ihrer ganzen Organisation so nahe, daß man sie Phykomyceten genannt hat.

Möglich, daß zur Bildung von Chlorophyllapparaten eine relativ große Menge von Calcium verbraucht wird, so daß die Organismen, welche keine solchen Apparate haben, bei einmaliger Züchtung den Kalk überhaupt entbehren zu können scheinen, weil zu anderen Zwecken nur verschwindende Mengen Kalk gebraucht werden.

Einige Beobachtungen von mir weisen faktisch darauf hin, daß das Calcium in relativ großer Menge zur Bildung der Chlorophyllapparate nötig sei.

Spirogyren, bekannte Süßwasseralgen, wurden in Alumi-

2*

niumbechern (in Glasschalen konnte Ca aus dem Glas in Lösung gehen) in Ca-freie Nährlösung versetzt und blieben darin 6 Wochen lang bei mäßiger, aber guter Beleuchtung stehen; ein Kontrollversuch mit Ca-haltiger Nährlösung diente zum Vergleich.

Während bei voller Nährlösung eine normale Ausbildung sämtlicher Zellorgane erfolgte, trat bei Ca-Mangel eine allmählich immer stärker werdende Massenabnahme der Chlorophyllbänder ein; letztere gingen nach Breite, Dicke und Länge stark zurück, schrumpften also ein, indem die Zellen wuchsen, die Chlorophyllbänder aber wegen Mangels an Neubildung nicht folgen konnten.

Zu welchen Zwecken sonst das Calcium nötig ist, läßt sich nur teilweise vermuten. In ausgewachsenen Organen findet man oft Calciumoxalatkristalle in ziemlicher Anzahl vor; möglicherweise ist das Ca da nötig, um die giftige Oxalsäure in unlöslichen Zustand überzuführen. Da aber in manchen Pflanzen kein Ca-Oxalat vorkommt, obwohl Oxalsäure gebildet wird, so kann von einer generellen Bedeutung derart keine Rede sein. Bei manchen Pflanzen dienen Calciumkarbonat-Ablagerungen zur Festigung von Organen (ähnlich wie bei Tieren).

Versuche über Ersetzbarkeit des Kaliums durch Rubidium und Cäsium ergaben bei Hefe zunächst immer ein positives Resultat, wenn nur einmal Gär- und Nährlösung gereicht wurde bis zum erfolgten Absitzen der Hefe (siehe hierüber A. Br. u. H.-Ztg. 1903. Juni). Z. B. ergaben folgende Versuche:

a)		b)	
Wasser	500 g	Wasser	500 g
Rohrzucker	25 „	Rohrzucker	25 „
Pepton	5 „	Pepton	5 „
Monokaliumphosphat	2,5 „	Mononatriumphosphat	2,5 „
Bittersalz	1,25 „	Rubidiumsulfat	2,5 „
Hefe	1 „	Bittersalz	1,25 „
Temperatur 27—30° C		Hefe	1 „
Versuchsdauer 42 Stunden.		Temperatur 27—30° C	
		Versuchsdauer 42 Stunden.	

in a) 1,20 g Trockensubstanz, in b) 1,12 g Trockensubstanz.

Die Hefesubstanz hatte sich also in beiden Fällen, bei Anwesenheit und bei Abwesenheit von Kalium fast gleich stark vermehrt; der Ernährungsvorgang war fast gleich kräftig.

Trotzdem glaubte ich nicht an die Ersetzbarkeit des Kaliums.

Es lassen sich ja auch von vornherein einige Einwendungen gegen die obigen Versuche a und b machen. Denn, wenn auch die kristallisierbaren Salze Kalium- oder Natriumphosphat (letzteres nur angewendet, um Phosphorsäure zuzuführen), Bittersalz, ferner das Wasser ganz rein waren und nicht durch verunreinigende Beimengungen zu Täuschungen Anlaß geben konnten, so war doch das Pepton nicht salzfrei zu erhalten; das käufliche Pepton kann sogar 1 Proz. phosphorsaures Kali enthalten; der Rohrzucker ist auch nicht ganz frei von Salzen.

Ferner können in der Hefe selbst für die erste Zeit ausreichende Vorräte von Kalium stecken.

Darum wurde nun die Aenderung getroffen, daß dieselbe Hefeportion wiederholt mit K-haltigen und K-freien Nährlösungen angesetzt wurde und der Peptongehalt möglichst verringert wurde.

So mußte der Kaliumvorrat der Hefe selbst aufgebraucht werden und der Mangel nun zu Tage treten, der durch die K-verunreinigung des Peptons nicht gedeckt wurde.

Faktisch ergab sich schon beim zweiten Aufziehen der Hefe in K-freier, aber rubidiumhaltiger Nährlösung ein Aufhören der Trockensubstanzvermehrung, während im Kontrollversuch, der unter ganz gleichen Bedingungen gestanden hatte, die Trockensubstanz sich bedeutend vermehrte.

Von einer wirklichen Ersetzung des Kaliums durch Rubidium kann also nicht die Rede sein. Autoreferat.

Sawamura, S., On the liquefaction of mannan by microbes. (Bulletin of the college of agriculture, Tokyo. Vol. V. 1903. No. 2. p. 259—262.)

Veranlassung zu vorliegender Untersuchung war die Beobachtung, daß eine aus *Hydrangea paniculata* Sieb. var. minor hergestellte und bei der Fabrikation japanischen Papiers verwandte schleimige Masse bei längerer Aufbewahrung ihre Klebrigkeit verlor. Der Hauptbestandteil dieser Masse war Mannose. Bei näherer Untersuchung fand Verf. in dem so verdorbenen Brei zahlreiche Mikroorganismen und suchte nun zu ergründen, ob Bakterien überhaupt und welche von ihnen eine (verflüssigende) Wirkung auf Mannose hätten. Zur Herstellung eines mannosehaltigen Nährbodens verwendete er ein aus der Wurzel von *Conophallus Konyaku* bereitetes, hauptsächlich aus Mannose bestehendes Präparat, das in einer heißen Lösung von 1-proz. Pepton, 0,1 Proz. Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat aufgelöst wurde. Nach Sterilisierung wurde der Nährboden mit verschiedenen Bakterien und Hefen infiziert und 2 Tage bei 36° gehalten. Es zeigte sich nun, daß allein der *Bacillus mesentericus vulgatus* im stande ist, in 2 Tagen Mannose zu verflüssigen, derselbe *Bacillus*, welcher auch Stärke, nicht aber Arabinose, in Zucker überführen kann. Nach einigen Wochen zeigt auch der *Bacillus prodigiosus* eine geringe Einwirkung auf Mannose. Sehr verstärkt wird diese Wirkung des *Bac. mesenter. vulgatus*, wenn außer ihm sowohl wilde als auch Bierhefe noch der Nährlösung zugesetzt war.

Kurt Tautz (Berlin).

Guilliermond, A., Remarques sur la copulation du *Schizosacharomyces mellacei*. (Annales de la Société de Botanique de Lyon. 1903. Avril.)

Der Verf. hatte bereits in früheren Arbeiten isogamische Konjugationsphänomene während der Sporenschlauchbildung bei folgenden 3 Arten von *Schizosacharomyceten* beschrieben: *Sch. octosporus*, *Sch. pombe*, *Sch. mellacei*. In der vorliegenden Arbeit beschäftigt er sich aufs neue mit *Sch. mellacei*. Er untersuchte 2 Varietäten dieser Art, von denen eine aus dem

Laboratorium von Jørgensen, die andere aus dem von Beijerinck stammt. Erstere ist die schon von Jørgensen beschriebene; sie weist isogamische Erscheinungen analog denjenigen von *Sch. pombe* auf. Bei der zweiten Varietät bilden sich die Sporenschläuche ohne jegliche Konjugation; sie ist demnach apogam. Diese beiden Varietäten weisen leichte Verschiedenheiten hinsichtlich der Dimension ihrer Zellen auf. Der Verf. schwankt, ob man sie als Varietäten einer und derselben Art oder als zwei verschiedene Arten auffassen soll, aber er zieht aus der für die Beijerincksche Varietät charakteristischen Apogamie den Schluß, daß die Hefen sehr wohl von anfänglich sexuellen Formen abstammen könnten, die infolge unbekannter Umstände apogam geworden seien. Diese Folgerung scheint durch zahlreiche ähnliche Beispiele bei den Algen bekräftigt zu werden.

J. Beauverie (Lyon).

Zederbauer, Emerich, Myxobacteriaceae, eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien. (Sitzungsberichte der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, math.-naturw. Klasse. Bd. CXII. 1903.)

Das genaue Studium der Entwicklung und des Baues zweier neu entdeckter Arten (*Myxococcus incrustans* und *Chondromyces glomeratus*), welche in die von Thaxter aufgestellte Organismengruppe der Myxobakteriaceen gehören, zeigte, daß sich bei jeder der oben genannten Arten stets zwei verschiedene Elemente nachweisen lassen; das eine gehört zu den Pilzen im engeren Sinne, das zweite zu den Bakterien. Wahrscheinlich handelt es sich auch bei den anderen Arten der Myxobakteriaceen um eine derartige Kombination. Die letztere kann im Sinne des Verf. als Symbiose aufgefaßt werden. Beide Komponenten dieser Kombination wurden in Reinkulturen gezüchtet.

Matouschek (Reichenberg).

Coupin, H., Sur la nutrition du Sterigmatocystis nigra. (C. R. Acad. Soc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 392.)

Bei einer Wiederholung der von Raulin (1870) angestellten Versuche mit *Sterigmatocystis nigra* kommt Verf. zu verschiedenen Resultaten, die von den Auffassungen und Ergebnissen des genannten Autors abweichen.

Eisen, Silicium und Zink sind für die Entwicklung des Pilzes ohne Vorteil; Zink hemmt vielmehr die Entwicklung des Mycels in gut ernährten Kulturen, und tötet es bei knapper Nährstoffzufuhr.

Die für das Wachstum des Pilzes erforderliche Acidität des Substrats wird durch die Tätigkeit des Mycels selbst geschaffen.

Küster (Halle a. S.).

Dangeard, P. A., Un nouveau genre de Chytridiacées: le Rhabdium acutum. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 473.)

Auf Fäden von *Spirogyra* und *Oedogonium* beobachtete

Verf. eine neue, sehr einfache Chytridiacee, die als *Rhabdium acutum* beschrieben wird.

Der Thallus stellt einen kurzen Faden dar, ist 20—50 μ lang, 2—4 μ breit; er ist außen an der Zellwand angeheftet und entsendet einen Saugfortsatz durch die Membran ins Innere der Wirtszelle. Bei der Zoosporenbildung wird der ganze Thallus zum Sporangium, es entstehen meist 16 Schwärmsporen. Sie sind nierenförmig und haben je ein Flagellum. Eine Zeit lang schwärmen sie und setzen sich dann an der Membran einer Alge fest. Der jugendliche Thallus enthält nur einen, sehr kleinen Kern nahe der Basis; später wird der Kern etwas größer und wandert in den mittleren Teil des Thallus; Kernmembran, körniges Nukleoplasma und Nukleolus sind deutlich zu unterscheiden. Vor der Zoosporenbildung teilt sich der Kern wiederholt, und es tritt eine Segmentierung des Thallusschlauches ein. Später verschwinden die Querwände wieder, und es bilden sich die Zoosporen. — Geschlechtsorgane wurden niemals gefunden.

Verf. macht auf die Uebereinstimmungen der neuen Chytridiacee mit den Saprolegniaceen aufmerksam.

Küster (Halle a. S.).

Magnus, Paul, Ein von F. W. Oliver nachgewiesener fossiler parasitischer Pilz. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. XXI. 1903. Heft 4. p. 249—250.)

F. W. Oliver beschrieb in „The New Phytologist“. Vol. II. 1903. No. 3. p. 49—53 pilzliche Bildungen auf Fiedern von *Alethopteris aquilina* (Schloth.) Goepp., die er auch sehr instruktiv und genau abbildet.

Verf. stellt nun fest, daß dieser Pilz, den Oliver nicht benannt hat, in seinem Aufbau sehr nahe der Gattung *Urophlyctis* steht; die Gattung benennt Verf. *Urophlyctites*, während er den von Oliver nachgewiesenen Pilz *Urophlyctites Oliverianus* benennt.

Matouschek (Reichenberg).

Jaczewski, A. v., Ueber das Vorkommen von *Neocosmospora vasinfecta* E. Smith auf *Sesamum orientale*. (Ann. Mycol. Vol. I. 1903. p. 31—32.)

In Turkestan tritt auf *Sesamum orientale* ein diese Pflanze sehr schädigender Pilz auf, welcher bewirkt, daß dieselbe plötzlich vertrocknet und der eine Braunfärbung der unteren Stengelteile verursacht. Im Innern der Stengel konnte reichliche Mycelbildung wahrgenommen werden. In Petrischalen wurden Mycelkulturen angestellt und bald entwickelten sich Mikrokonidien, welche seitlich einzeln auf kleinen Sterigmen gebildet wurden. Diese Konidien sind einzellig, hyalin, etwas gekrümmt, 4—12 μ lang und 3—5 μ breit. 3—4 Tage später erscheinen Makrokonidien vom *Fusarium*-Typus, welche spindelförmig, drei oder sogar mehrzellig sind, von 25—50 μ Länge und 3—6 μ Breite. Die Makrokonidien keimen sofort und führen zu neuer Mycelbildung. Einige Tage später hört die Bildung der Mikro- und Makrokonidien fast gänzlich auf

und man bemerkt jetzt interkalare, terminale oder seitlich auf kurzen Zweigen sitzende hyaline Chlamydosporen von kugelrunder Form und 10—12 μ Breite.

Da sowohl die Merkmale der Beschädigung der *Sesamum*-Pflanzen wie auch die soeben beschriebenen Fruktifikationsformen genau zu der Beschreibung von *Neocosmospora vasinfecta* E. Smith passen, welche in Nordamerika und Aegypten eine gefährliche Krankheit der Baumwollpflanzen hervorruft, so nimmt Verf. an, daß die *Sesamum*-Krankheit von ebenderselben *Neocosmospora* verursacht wird. Allerdings gelang es nicht, die völlige Identität beider Krankheiten festzustellen, da Verf. in seinen Kulturen noch keine Perithezien erhielt.

Nach Delacroix lebt derselbe Pilz auch auf *Dianthus* im Mittelmeergebiet. Er scheint also betreffs der Wahl des Substrates sehr indifferent zu sein, zumal derselbe in Nordamerika außer auf der Baumwolle auch noch auf *Citrullus*, *Vigna* und *Hibiscus* beobachtet wurde.
H. Sydow (Berlin).

Jaczewski, A. v., Ueber eine neue Krankheit auf der Eberesche, *Sorbus Aucuparia*. (Annal. Mycol. Vol. I. 1903. p. 29—30.)

Verf. bespricht das Auftreten eines neuen Parasiten der Eberesche, der zur Gattung *Leptosphaeria* gehört und als *L. Sorbi* nov. spec. bezeichnet wird. Der Pilz bildet auf den Blättern der Nährpflanze rundliche, grauweißliche, braun umsäumte Flecken und erinnert habituell sehr an die genügend bekannte *Septoria piricola* Fuck. Das Pilzmycel verbreitet sich zwischen den Parenchymzellen des Blattes und besteht aus olivengrünen, verzweigten, 3 μ breiten Fäden. Auf den Flecken erkennt man die kleinen, runden, schwarzen Perithezien, welche am Scheitel mit einer kleinen Oeffnung versehen sind und 100—150 μ im Durchmesser erreichen. Die Schläuche sind 55—60 μ lang, 12—14 μ breit und von fadenförmigen Paraphysen umgeben. Die Sporen liegen zu 8 in jedem Schlauche, sie sind olivenfarbig, vierzellig, etwas gekrümmt, 25—30 μ lang, 4—5 μ breit.

Die Art erinnert sehr an *Leptosphaeria Lucilla* Sacc., deren Pyknidenform die bereits erwähnte *Septoria piricola* Fuck. ist und den Birnbäumen bekanntlich großen Schaden verursacht. Es wäre nach Verf. sehr leicht möglich, daß wir es hier mit einer Form der *Leptosphaeria Lucilla* zu tun haben, welche sich an die Eberesche angepaßt hat.

Die aus Deutschland beschriebene *Septoria Sorbi* Lasch dürfte vielleicht als Pyknidenform zu der neuen *Leptosphaeria Sorbi* zu stellen sein.
H. Sydow (Berlin).

Mollisch, H., Amöben als Parasiten in *Volvox*. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. XXI. 1903. p. 20. Mit Tafel III.)

Verf. beobachtete Kolonien von *Volvox minor*, welche sich in lebhafter Bewegung befanden, von einer mehr oder weniger großen Anzahl von Amöben durchsetzt. Die Kolonien werden durch die

sie bewohnenden Amöben in ihrer Lebenstätigkeit geschädigt; letztere verzehren die assimilierenden Zellen. Die Bewegungsfähigkeit der Kolonien nimmt erst bei sehr zahlreichem Auftreten der Amöben ab.
Neger (Eisenach).

Gvozdenovič, Fr., In Dalmatien im Jahre 1902 beobachtete Pflanzenkrankheiten und Schädlinge. (Zeitschr. für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1903. p. 320.)

Infolge des überaus milden Winters sind alle möglichen Pflanzensäuse, hie und da sogar sehr gefährlich, aufgetreten, insbesondere *Aphis mygdali*, *persicae* und *cerasi* auf Mandel-, Pfirsich- und Kirschbäumen und spezielle Aphisarten auf Pferdebohnen und Kürbisgewächsen. Tabakextrakt in Seifenemulsion hat gegen diese Schädlinge stets gute Erfolge geliefert. Die Blutlaus (*Schyzoneura lanigera*) ist nur stellenweise aufgetreten, die Schildlaus (*Leucanium cerasi*) hat Maraskenbäume ziemlich stark befallen. Der Borkenkäfer (*Bostrychus dispar*) war nicht selten auf Aepfelstämmen und Zweigen anzutreffen. Von den Schmetterlingen war die Apfelbaumgespinnstmotte (*Hyponomeuta malinella*) am meisten verbreitet. Ganze Kohlfelder wurden gleichzeitig verwüstet durch den grünlänzenden Rüsselkäfer (*Baridius chloris*), den Rüsselkäfer (*Lixus ochraceus*) und durch die winzige Kohlfiege (*Anthomyia brassicae*). Auf Eichen wurde beobachtet ein Blattrüßler, wahrscheinlich *Polydrosus cervinus*, auf Kiefern der Weißpunktrüßler (*Pissodes notatus*) und der Knospenwickler (*Retinia* oder *Tortrix turoniana*). An dem Zurückgehen und Absterben der Chrysanthemum-Pflanzen hat höchstwahrscheinlich eine Wurzelnematode (*Heterodera radicola*) den hervorragendsten Anteil gehabt. Weitere biologische Studien zur Bestimmung der Aelchenart sollen folgen. Dieser Schädling hat für Dalmatien insofern eine höchst traurige Bedeutung, als er nur sehr schwer zu bekämpfen ist und bereits viele Landwirte gezwungen hat, die Chrysanthemum-Kultur aufzugeben.
Stift (Wien).

Tubelf, C. von, Hausschwammfrage. (Naturwiss. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. Bd. I. 1903. p. 89—104.)

Bei seinen Studien anlässlich der Redaktion einer zweiten Auflage (1902) von Hartigs „Hausschwammbuch“ ergaben sich für den Verf. folgende Fragestellungen, welche sich auf noch ungenügend aufgeklärte Erscheinungen in der Biologie des Hausschwammes beziehen:

- 1) Kommt der Hausschwamm in unseren Waldungen häufig vor und ist mit einer Gefahr seiner Verschleppung aus dem Wald praktisch zu rechnen?
- 2) Vermag der Hausschwamm als Parasit im Holz lebender Bäume zu gedeihen?
- 3) Unter welchen Bedingungen keimen die Basidiosporen?
- 4) Besitzt der Hausschwamm außer den Basidiosporen noch andere Vermehrungsorgane?

5) Wie überwintert der Hausschwamm?

Zur Beantwortung der Frage 1 liegen zwar in der Literatur zahlreiche Angaben vor, aus welchen sich der Schluß ziehen läßt, daß der Hausschwamm zwar hie und da im Walde frei vorkommt. Indessen ist derselbe doch nur als seltener Gast unserer Wälder zu bezeichnen, und es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich in allen bisher beobachteten Fällen um Verschleppungen aus menschlichen Wohnstätten in den Wald hinaus handle. Demnach ist wohl auch nur selten praktisch mit einer Gefahr der Verschleppung aus dem Walde zu rechnen.

Frage 2, ob der Hausschwamm als Parasit im Stamm lebender Bäume vorkommt, harret noch der Beantwortung. Der bejahenden Behauptung von Hennings, — welche freilich nicht auf einwandfreie Untersuchungen begründet ist — steht gegenüber, daß alle bisher angestellten Infektionsversuche erfolglos waren (vergl. C. f. Bakt. u. Par. 1902. Abt. II. Bd. IX. p. 133.)

Auch die Frage 3 nach den Keimungsbedingungen der Basidiosporen ist seit Hartigs und Brefelds Versuchen nicht weiter gefördert worden.

Von anderen Vermehrungsorganen (Frage 4) sind als sicher bekannt nur die vom Verf. in Kulturen beobachteten Gemmen (Chlamydosporen) zu erwähnen, über deren Entstehungsbedingungen und Auftreten (außerhalb künstlicher Kulturen) noch nichts bekannt ist.

Ob bei der Ueberwinterung (Frage 5) des Hausschwammes dessen Vegetationsmycel nach Hartig gegen Frost, Hitze und Trockenheit sehr empfindlich ist, Rhizomorphen oder Gemmen eine Rolle spielen, ist ebenfalls noch zu ermitteln.

Neger (Eisenach).

Möller, Der Hausschwamm. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. Bd. XXXV. 1903. p. 225—235. Mit 1 Tafel.)

Aehnlich wie v. Tubeuf in seinen „Hausschwammfragen“ obenstehend sucht Verf. durch Zusammenstellung dessen, was über das Auftreten des *Merulius* im Freien bekannt geworden ist, der Frage näher zu treten, ob tatsächlich die Gefahr besteht, daß der Pilz mit Bauholz aus dem Walde in Neubauten verschleppt wird, eine Ansicht, welche besonders P. Hennings vertritt.

Daß die Fruchtkörper bisher selten im Walde beobachtet worden sind, ist kein Beweis gegen die Hennings'sche Behauptung. Allem Anschein nach ist der Hausschwamm ein im Verborgenen schleichernder Bewohner des Waldes, der seine Anwesenheit nur selten und unter besonders günstigen Umständen durch Ausbildung der Fruchtkörper verrät.

Eine der von v. Tubeuf aufgeworfenen Hausschwammfragen wird vom Verf. in vollkommen abschließender Weise beobachtet, nämlich die Frage nach den Keimungsbedingungen der Basidiosporen (eingehende Beschreibung in *Hedwigia*. 1903. Heft 1). Während die Keimung in reinem Wasser nicht erfolgt, verlief sie ganz nor-

mal in Biorwürze bei 25° C; höhere oder niedrigere Temperaturen beeinträchtigen oder hindern die Keimung. Bei Angabe Hartigs, daß kohlen-saures Kali oder kohlen-saures Ammonium die Keimung befördern, hat sich nicht bestätigt. Ersteres wirkt sogar nachteilig. Günstigen Einfluß hat dagegen der Zusatz von phosphor-saurem Ammonium. Aus den Keimschläuchen wächst ein flockiges Mycel heran. Auch bei diesen Versuchen zeigte sich, daß die seitlichen Verzweigungen des Mycels durchaus nicht immer von Schnallenzellen entspringen, weshalb diese Erscheinung kein absolut sicheres Erkennungsmerkmal für Hausschwammmycel darstellt.
Neger (Eisenach).

Matruchot, L. et Mollard M., Modifications produites par le gel dans la structure des cellules végétales. (Rev. gén. de Bot. T. XIV. 1902. p. 401.)

Die cytologischen Veränderungen der Pflanzenzellen unter dem Einfluß der Kälte lassen sich ebenso wie die makroskopisch wahrnehmbaren Erfrierungserscheinungen auf Wasserabgabe seitens der Zellenorgane als Ursache zurückführen. Sowohl das Cytoplasma als auch der Kern scheiden Wasser aus: es erscheinen in ihnen Bläschen (Vakuolen), die ihren Inhalt auf osmotischem Wege oder in direktem Erguß an die Vakuole der Zelle abgeben. Die Wasserabgabe seitens des Cytoplasmas läßt keine abweichenden Strukturverhältnisse sichtbar werden. Der Kern nimmt bei der rapiden Wasserabgabe deutlich an Volumen ab und läßt bestimmte Strukturänderungen erkennen. Die Wasserausscheidung im Kern führt zu Strömungen in diesem in einer oder mehreren Richtungen und geben dem Kern eine eigenartige mono-, bi- oder multipolare Struktur: die „Pole“ bezeichnen die Stellen, an welchen das Wasser besonders leicht hindurchtritt; sie sind somit besonders wasserreich und relativ schwach färbbar. Die Lage der Pole läßt stets Beziehungen zu der des Zellsafrumes erkennen; je dünner die Plasmaschicht, die den Kern von der Vakuole trennt, und je leichter der Durchtritt des Wassers ist, um so deutlicher ist der „Pol“ des Kernes.

Dieselben Veränderungen wie unter dem Einfluß niedriger Temperaturen beobachteten die Verff. nach Plasmolyse und beim Welken.

Küster (Halle a. S.).

Lindau, G., Ueber die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. (Naturw. Wochenschr. N. F. Bd. II. No. 36.)

An der Hand der historischen Entwicklung der Rauchexpertise beleuchtet Verf. den Wert der chemischen Analyse sowie die Bedeutung der Botanik für den Nachweis von Rauchbeschädigungen und kommt dabei zu dem richtigen Satze, daß die Erkennung einer Rauchvergiftung durch SO₂ aus den äußerlichen morphologischen Merkmalen auf derselben Stufe wie die Schwefelsäureanalyse steht und daß beide nur unter Berücksichtigung aller anderen Begleiterscheinungen sichere Schlüsse zulassen. Ebenso bietet die mikroskopische Untersuchung der geschädigten Pflanzen noch kein für die Diagnose genügendes Merkmal. Die durch die schweflige Säure

in den Blattorganen hervorgerufenen Desorganisationerscheinungen, z. B. Auflösung der Chlorophyllkörner, Entmischung des Plasmas, Auftreten von Oel und Gerbstoff sind noch viel zu wenig untersucht, als daß sie für die Beurteilung der Krankheitsursache allein herangezogen werden können. Möglicherweise gelingt es umfassenden Untersuchungen über die Schädigungen der Zellen zu zeigen, daß die Botanik mindestens ebenso scharf wie die Chemie und mit viel geringerem Zeitaufwand eine Rauchbeschädigung festzustellen vermag.

Den Bekanntes bringenden Mitteilungen über äußere Rauchschadenssymptome bei SO_2 -Vergiftung, Resistenz der forst- und landwirtschaftlichen Kulturgewächse u. s. w. fügt Verf. noch kurze Bemerkungen über andere vegetationsschädliche Gase (Chlor, Salzsäure, Fluorwasserstoffsäure, Teer, Asphalt, Städtenebel, Leuchtgas) an und kommt bei Betrachtung des Interessenwiderstreites zwischen Industrie und Bodenproduktionsgewerben zur Empfehlung gegenseitiger Vorsichts- und Schadenverminderungsmaßnahmen. Die wichtigste Aufgabe bei der Lösung der Rauchfrage schreibt Verf. dem Staate zu, indem dieser sorgfältig alle Bedingungen zu prüfen habe, bevor er einen giftige Abgase produzierenden Industriebetrieb konzessioniert. Angesichts des Vorherrschens westlicher bis südlicher Winde in Norddeutschland sollen Fabriken so gelegt werden, daß sich im Osten und Norden von ihnen nur Oedländereien oder wenig wertvolle Anbauflächen befinden. Die Berücksichtigung dieser Forderung in den meisten Fällen für möglich erachtend, gibt sich Verf. der (wohl kaum erfüllbaren) Hoffnung hin, daß dann die Klagen über Rauchvergiftung in absehbarer Zeit verstummen werden.

Beck (Tharandt).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Kattein und Schoofs, Versuche zur Reinigung von Molkereiabwässern durch das Oxydationsverfahren. (Milch-Zeitung. Bd. XXXII. 1903. No. 7 und 8.)

Die Verf. erzielten bei ihren Versuchen, Molkereiabwässer mittels des biologischen Verfahrens zu reinigen, günstige Resultate. Bei Anwendung des intermittierenden Oxydationsverfahrens wurde aus einem an sich bald in stinkende Fäulnis übergehenden Schmutzwasser ein nicht mehr fäulnisfähiges Wasser ohne belästigenden Geruch erhalten. Dieser Erfolg war durch 4-stündiges Stehen des Abwassers auf dem Oxydationskörper und darauf folgende 14-stündige Lüftungsperiode erzielt worden. Die Oxydierbarkeit wurde bei dieser Behandlungsweise um durchschnittlich 79,1 Proz. herabgesetzt. Auch das kontinuierliche Oxydationsverfahren in der von Dunbar angegebenen Form des Tropfverfahrens ergab gute Resultate. Das gereinigte Abwasser war nicht mehr fäulnisfähig, und seine Oxydierbarkeit war nach Passieren des Tropfkörpers um durchschnittlich 93,1 Proz. herabgesetzt. Eine entsprechend starke Abnahme erfuhren organischer Stickstoff, Glühverlust und Fett-

gehalt. Die Zersetzung der von dem Oxydationskörper zurückgehaltenen Stoffe erfolgte rasch und ohne Entwicklung belästigender Gerüche.

Die Verff. kommen zu dem Schlusse, daß das kontinuierliche Oxydationsverfahren im vorliegenden Falle dem intermittierenden überlegen und vorzuziehen sei.

Vogel (Posen).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Hrsg. v. M. Hollrung. Bd. IV: Das Jahr 1901. Berlin (Parey) 1903. 12 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Krahl, F., Ueber einfache expeditiv Geißelfärbungsmethoden. (Verh. dtshr. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil II. Hälfte 2. 1903. p. 621.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bandi, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen u. s. w. (Schluß.) (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 4. p. 129—152.)

Bertarelli, Untersuchungen und Beobachtungen über die Biologie und Pathogenität des *Bacillus prodigiosus*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 3. p. 193—202.)

Bubák, Ein neuer Fall von Generationswechsel zwischen zwei, dikotyledone Pflanzen bewohnenden Uredineen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 18/19. p. 574.)

Charpentier, P. G., Recherches sur la physiologie d'une algue verte. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 6. p. 369—420.)

Danyss, J. et Wise, K., Les entomophytes du charançon des betteraves à sucre. (*Cleonus punctiventris*). (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 6. p. 421—446.)

Diedicke, H., Sphärioiden aus Thüringen. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 4. p. 165—167.)

Dietsch, P., Bemerkungen über einige nordamerikanische Uredineen. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 4. p. 179—181. 2 Fig.)

Foa, G. et Chiappella, A. E., Ricerche sopra un nuovo microrganismo fosforescente. (Sperimentale. T. LVII. 1900. F. 3. p. 274—310. 1 Taf.)

v. Hansemann, Ueber säurefeste Bacillen bei *Python veticularis*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 3. p. 212—213.)

Haller, A., Ueber *Oxyuris vermicularis*. (Dtscha. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXVII. 1903. Heft 1/2. p. 21—28. 3 Taf.)

Henneberg, W., Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennerreimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVI. 1903. N. 29. p. 315—318; N. 30. p. 329—352; N. 31. 341—344. 12 Fig.)

Hennings, P., Zwei neue, Früchte bewohnende Uredineen. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 4. p. 188—189.)

Hiltner, L. und Störmer, K., Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Leguminosen und deren Erreger. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. a. kais. Gesundheitsamte. Bd. III. 1903. Heft 3. p. 151—307. 4 Taf. u. 5 Fig.)

- Klein, E.**, Weitere Untersuchungen über die Kleinsche tierpathogene Hefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 3. p. 224.)
- Kolkwitz, B.**, Ueber Bau und Leben des Abwaspilzes *Leptomitus lacteus*. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. zu Berlin. 1903. Heft 2. p. 34—98. 4 Taf.)
- Kral, F.**, Zur Differenzierung und objektiven Darstellung des Zellinhaltes von Hefe- und Spaltpilzen. (Verh. dtsh. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil II. Hälfte 2. 1903. p. 621—622.)
- Lents, J.**, Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von Typhusbacillen in Braunbier. (Klin. Jahrb. Bd. XI. 1903. Heft 2. p. 315—320.)
- Lode, A.**, Studien über Bakterienantagonismus. (Verh. Dtsch. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil II. Hälfte 2. 1903. p. 619—620.)
- Malenković, Basilius**, Zur Hausschwammfrage. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Wien. Jg. XXIX. 1903. Heft 7. p. 231—296. 29 Fig.)
- Mengarini, Margherita Traube**, Sulla conjugazione delle amebe. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. T. XII. 1903. Fasc. 7. p. 274—282. 4 Fig.)
- Mouton, H.**, L'autolyse des champignons Basidiomycètes. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 25. p. 976—977.)
- Neumann, Wender**, Zur Nomenklatur der Hefearbeit. (Verh. Ges. deutscher Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil II. Hälfte 1. p. 105—107.)
- Saserac, B.**, Sur une bactérie oxydante, son action sur l'alcool et la glycérine. (Compte rend. Acad. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 2. p. 90—92.)
- Schultz-Schultzenstein**, Ueber die nitrifizierenden Mikroorganismen der Filterkörper biologischer Abwässer-Reinigungsanlagen. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. zu Berlin. 1903. Heft 2. p. 1—33.)
- Segin, Adalbert**, Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 3. p. 202—212.)
- Stäger, Rob.**, Infektionsversuche mit Tramineen bewohnenden Claviceps-Arten. (Bot. Ztg. Abt. I. Originalabh. 1903. Heft 6/7. p. 11—158.)
- Vuillemin, Paul**, La famille des Clostridiacées ou Bactéries cystosporées. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVI. 1903. N. 25. p. 1582—1584.)
- Weis, Fr.**, Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 30. p. 497—500.)
- Wiener, E.**, Ueber das Variieren der biologischen Eigenschaften der Bakterien. (Verh. Ges. dtsh. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil II. Hälfte 2. 1903. p. 617.)
- Zupnik, L.**, *Bacterium muris*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 3. p. 213—214.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Schacherl, G.**, Ueber die Zulässigkeit künstlicher Farbstoffe zum Färben von Lebensmitteln. (Ztschr. d. allg. österr. Apotheker-Ver. Jg. XLI. 1903. N. 30. p. 847—849.)

Luft, Wasser, Boden.

- Bail, O.**, Ueber die Verwesung im Boden. (Verh. dtsh. Naturf. u. Aerzte. Karlsbad 1902. Teil II. Hälfte 2. 1903. p. 623.)
- Buhlert**, Neuere Forschungen auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LII. 1903. Heft 14. p. 494—500.)
- Kolkwitz**, Beiträge zur biologischen Wasserbeurteilung. a) Trinkwasseruntersuchung. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Wasserbeseitig. zu Berlin. 1903. Heft 2. p. 23—27.)
- Marsson**, Beiträge zur biologischen Wasserbeurteilung. b) Flußschlammuntersuchungen. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. zu Berlin. 1903. Heft 2. p. 27—33.)

Milch, Molkerei.

- Burri, R.**, Welchen Nutzen hat bis jetzt die Emmenthaler Käseerei aus der Bakteriologie gezogen und welche Förderung darf sie in Zukunft von dieser Wissenschaft erwarten? [Forts.] (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIII. 1903. N. 30. p. 349—351; Schweizer. Landw. Centralbl. Jg. XXII. 1903. Heft 6. p. 161—173.)

- Butter exhibits at Royal agricultural Show, Sydney 1903. Bacteriological investigation. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 6. p. 550—553.)
Schweitzer, Gustav, Milchhygienische Studien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 18/19. p. 563—570.)

Bier, Brauerei.

- Claussen, Hjelte**, Ueber die Sarcinakrankheit des Bieres und ihre Erreger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 18/19. p. 561—562.)
 One hundred years of brewing. A complete history of the progress made in the art science and industry of brewing in the world, particularly during the Nineteenth century. A Supplement to the Western Brewer 1903. Chicago and New York (Rich & Co.) 1903. 718 p. fol.

Wein, Weinbereitung.

- Blares, Ch.**, Sur la teneur des vins mustelles et des autres vins, en acides solubles dans l'éther, comme moyen de différentiation. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 2. p. 64—65.)
Canu, G., La préparation des vins de liqueur. (Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 56. p. 224.)
Dambergis, A. K., Der griechische Resinat-Wein. (Oesterr. Chemiker-Ztg. Jg. VI. 1903. N. 14. p. 316.)
Desmoulins, A. M., Le séchage des vins douxereux. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 54. p. 215—216.)
 —, Les vins aigres-doux. (Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 56. p. 223—224.)
 —, L'éclairage des caves et la conservation des vins. (Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 57. p. 228.)
Gautier, Armand et Halphen, G., Caractères des liqueurs fermentées. Distinction des mistelles d'avec les vins de liqueur et vins assimilables. (Journ. de pharm. et de chim. Année XCIV. Sér. 6. T. XVIII. 1903. N. 2. p. 49—56.)
Guiraud, D., Les altérations des raisins. (Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 57. p. 228.)
Reisch, Rudolf, Ueber einige Spezialitäten für die Behandlung des Weines. (D. Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 30. p. 349—351.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Bullmann, W.**, Bakteriologische Untersuchung der Butterini di Sorrent. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Jg. VI. 1903. Heft 14. p. 640—641.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Bréchet, A.**, Procédés d'incinération sans odeur in fumée et de stérilisation des matières usées et contaminées. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXV. 1903. N. 7. p. 615—632. 8 Fig.)
Gantz, M., Sur la désinfection en générale et sur la désinfection obligatoire. (Zdrowie. Organ Warszaw. Roz. 19. 1903. z. 6/7. p. 676—685. Poln.)
Korson, T., Sur la désinfection avec la vapeur. (Zdrowie. Organ. Warszaw. Roz. 19. 1903. z. 6/7. p. 685—694. poln.)
Simon, David, Die desinfektorische Kraft erwärmter Sodalösungen. Diss. med. Leipzig. Juni 1903.
Thumm, K. und Pritakow, A., Versuche über die Reinigung der Abwässer von Tempelhof bei Berlin durch das biologische Verfahren. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. zu Berlin. Heft 2. 1903. p. 127—163. 2 Tab.)
Wernicke, E., Bemerkungen über die Ausbildung von Desinfektoren und über Desinfektorenschulen. (Klin. Jahrb. Bd. XI. 1903. Heft 2. p. 305—314.)
Zahn, Curt, Weitere Versuche über die Reinigung des Charlottenburger Abwassers auf der Pumpstation Westend durch das biologischen Verfahren. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. zu Berlin. 1903. Heft 2. p. 164—174. 1 Tab.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Aderhold, Rud.**, Ueber das Kirschbaumsterben, seine Ursachen und seine Behand-

- lung. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. kais. Gesundheitsamte. Bd. III. 1903. Heft 4. p. 309—363. 3 Taf. u. 7 Fig.)
- Appel, Otto**, Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit und die durch Bakterien hervorgerufene Knollenfäule der Kartoffel. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. kais. Gesundheitsamte. Bd. III. 1903. Heft 4. p. 364—443. 4 Taf. u. 22 Fig.)
- Arthold, M.**, Ueber den Grind oder Krebs des Weinstockes. (Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 29. p. 341.)
- Beauverie, J.**, La maladie des Platanes. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVI. 1903. N. 25. p. 1586—1588.)
- Brisi, Ugo**, Sulla Botrytis citricola, parassita degli agrumi. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. T. XII. 1903. Fasc. 8. p. 318—324.)
- Delacroix**, La brunissure de la pomme de terre. (Bull. mens. de l'office de renseign. agricoles. Paris. Année II. 1903. p. 29—31.)
- Froggatt, Walter, W.**, Insects that damage wheat and other foodstuffs. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 6. p. 481—492. 1 Taf.)
- von Höhnelt, Franz**, Ueber einige Ramularien auf Doldengewächsen. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 4. p. 176—178.)
- La lutte contre la Diaspis pentagona.** (Bull. mens. de l'office de renseign. agricoles. Pares Année II. 1903. p. 119—123.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Bertarelli, E.**, Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke, p. 8.
- Golding, John**, Experiments on Peas in Water Culture, p. 1.

Referate aus bakteriologischen und gährungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

- Schönfeld, F.**, „Kochende“ Gärung bei Berliner Weißbier. Eine Folge von Verwendung von forciertem Weizenmalze, p. 14.
- , Einige Beobachtungen aus der Praxis über die Quellen wilder Hefeninfektionen, p. 14.

Referate.

- Bokorny, Th.**, Können einzelne physiologisch wichtige Aschenbestandteile des Organismus durch andere, chemisch ähnliche Elemente ersetzt werden? p. 15.
- Coupin, H.**, Sur la nutrition du Sterigmatocystis nigra, p. 22.
- Dangeard, P. A.**, Un nouveau genre de Chytridiacées: le Rhabdium acutum, p. 22.
- Guilliermond, A.**, Remarques sur la

copulation du Schizosacharomyces mellacei, p. 21.

- Gvozdenović, Fr.**, In Dalmatien im Jahre 1902 beobachtete Pflanzenkrankheiten und Schädlinge, p. 25.
- Jaczkowski, A. v.**, Ueber das Vorkommen von Neocosmospora vas-infecta E. Smith auf Sesamum orientale, p. 23.
- , Ueber eine neue Krankheit auf der Eberesche (Sorbus Aucuparia), p. 24.
- Lindau, G.**, Ueber die Beschädigung der Vegetation durch Rauch, p. 27.
- Magnus, Paul**, Ein von F. W. Oliver nachgewiesener fossiler Pilz, p. 23.
- Matruchot, L. et Molliard, M.**, Modifications produites par le gel dans la structure des cellules végétales, p. 27.
- Molisch, H.**, Amöben als Parasiten in Volvox, p. 24.
- Möller**, Der Hausschwamm, p. 26.
- Sawamura, S.**, On the liquefaction of mannan by microbes, p. 21.
- Tubeuf, C. von**, Hausschwammfrage, p. 25.
- Zederbauer, Emerich**, Myxobacteriaceae, eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien, p. 22.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Kattein und Schoofs**, Versuche zur Reinigung von Molkereiabwässern durch das Oxydationsverfahren, p. 28.

Neue Litteratur, p. 29.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U.S.A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 29. September 1903.

No. 2.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einwirkung der Anilinfarben auf Invertin.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des botanischen Instituts
der Kaiserl. militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von S. S. Mereshkowsky.

Die weiter beschriebenen Versuche wurden vorläufig aufgestellt
nur zur Lösung der allgemeinen Frage, wie sich die Fermente zu
den verschiedenen Farbstoffen verhalten.

Als Versuchsobjekt wählte ich fürs erste als Ferment Invertin
und als Farbstoffe Fuchsin, Kongorot und Safranin.

Zweite Abt. Bd. XI.

3

Da ich mich anfangs nur im allgemeinen über diese Frage orientieren wollte, so glaubte ich, die Reinheit der Präparate einstweilen unberücksichtigt lassen zu können und benutzte daher das von Merck in Darmstadt erhaltene Invertin.

Dasselbe hatte das Aussehen eines weißen, trockenen, mehlig Pulvers, welches bei mikroskopischer Untersuchung im Wassertropfen sich als aus einer großen Menge von Hefezellen bestehend erwies, denen stellenweise stäbchenförmige Bakterien beigemischt waren. Was die Hefezellen anbetrifft, so waren sowohl einzelne als auch genetisch zu Gruppen verbundene anzutreffen. Bei einigen derselben hatte das Plasma sein vollständig normales Aussehen beibehalten, bei anderen dagegen erschien es zusammengeschrumpft und mehr oder weniger stark zerstört. Stellenweise waren auch vollkommen leere Zellhäute anzutreffen.

Um festzustellen, ob unter den Hefezellen sich auch solche befinden, welche ihre Lebensfähigkeit noch beibehalten haben, sind Plattenkulturen und Aussaten in verschiedenen zuckerhaltigen Nährsubstraten angestellt worden. Das Resultat war in allen Fällen ein negatives. Die Stäbchen dagegen erwiesen sich als lebend und zu mehreren Arten gehörend, ohne jedoch auf den Rohrzucker merklich einzuwirken.

Um die Wirkungskraft des Invertins zu bestimmen, wurde eine Lösung von 1 g desselben in 1 l sterilisierten Wassers bereitet; je 1 ccm dieser Lösung wurde in mehreren Reagenzgläsern mit je 5 ccm 20-proz. Rohrzuckerlösung vermischt. Eins von diesen Reagenzgläsern wurde gleich danach für 15 Minuten in kochendes Wasser getan und dann mit den übrigen in den Brutschrank bei 34° C gestellt.

Bei der nach 24 Stunden ausgeführten Analyse erwies es sich, daß die Zuckerlösung in allen Reagenzgläsern ihre neutrale Reaktion beibehalten hatte. Aus jedem Reagenzglas wurde die Lösung bis zum 20-fachen Volumen mit Wasser verdünnt und mit Fehling'scher Lösung titriert, wobei von den ungewärmten Zuckerlösungen durchschnittlich 13,8 ccm bis zur vollkommenen Reduktion verbraucht wurden. Die vorher in kochendem Wasser gewesene Zuckerlösung (s. oben) ergab dagegen überhaupt keine Reduktion.

Die chemische Reinheit der Anilinfarben wurde nicht geprüft.

1. Einwirkung des Fuchsins auf Invertin.

Für den Versuch wurde eine 20-proz. wässrige Rohrzuckerlösung bereitet und in 4 Portionen geteilt. Zu 3 dieser Portionen wurde Fuchsin in solchen Mengen zugesetzt, daß sich 3 stark unterscheidende Farbengradationen ergaben: nämlich die eine erschien rosa, die zweite grellrot und die dritte dunkelrot. Die 4. Portion blieb ohne Zusatz von Fuchsin. Eine jede dieser 4 Lösungen wurde in Reagenzgläser zu 5 ccm gefüllt. Nach Zusatz des Fuchsins wurde die Flüssigkeit nicht sterilisiert.

Am 18. Aug. 1902 wurde in jedes Reagenzglas von dem Merck'schen Invertin so viel zugesetzt, als eine Platinöse von dem Pulver fassen konnte. Danach wurden die Lösungen ordentlich durchgeschüttelt und in den Brutschrank bei 34° C gestellt.

Bei der Besichtigung der Reagenzgläser No. 1 (mit rosagefärbter Flüssigkeit), No. 2 (mit dunkelroter Flüssigkeit) und No. 3 (ohne Fuchsinzusatz) nach 48 Stunden erwies es sich, daß die Flüssigkeit in ihnen fast vollkommen klar war und nur einen geringen Bodensatz enthielt. Die mikroskopische Untersuchung des Bodensatzes aus dem Reagenzglas No. 1 und 3 zeigte, daß derselbe aus ungefärbten Hefezellen und Stäbchenbakterien bestand, aus dem Reagenzglas No. 2 dagegen erschienen dieselben Elemente intensiv tingiert. Die Flüssigkeit in den Reagenzgläsern hatte ihre neutrale Reaktion beibehalten. Nach dem Verdünnen einer jeden derselben bis zum Volumen von 100 ccm wurden die Flüssigkeiten mit je 10 ccm Fehlingscher Lösung titriert.

Die Resultate sind aus folgenden Tabellen zu ersehen:

Tabelle 1.

No. der Reagenzgläser	Intensität der Färbung	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 1	rosa	5,5
No. 2	dunkelrot	100
No. 3	ohne Fuchsin	6,6

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß eine geringe Quantität von Fuchsin keine merkliche Einwirkung auf die Inversion ausgeübt hat. Bei Gegenwart von großer Menge des Fuchsin fand dagegen bei obigen Versuchsbedingungen überhaupt keine Inversion des Zuckers statt.

Am 22. Aug., d. h. 4 Tage nach dem Anfang des Versuches, wurde das Reagenzglas No. 4 (mit grellroter Flüssigkeit) untersucht, und am 23. Aug. das Reagenzglas No. 5 (mit dunkelroter Flüssigkeit, entsprechend dem Reagenzglas No. 2, s. oben). Im Reagenzglas No. 4 erwies sich die Flüssigkeit klar, grellrot gefärbt, mit geringem dunkelroten Niederschlag am Boden, welcher sich beim Umschütteln in Flöckchen verteilte. Bei der mikroskopischen Untersuchung derselben ergab es sich, daß der Bodensatz aus einer großen Menge Hefezellen und aus einer verhältnismäßig geringen Anzahl von Stäbchenbakterien bestand. Die einen sowohl als auch die anderen erschienen intensiv gefärbt; nur eine sehr geringe Anzahl von Stäbchen hatte keinen Farbstoff aufgenommen. Die Stäbchen waren unbeweglich.

Im Reagenzglas No. 5 war die Flüssigkeit gleichfalls klar, dunkelrot gefärbt und enthielt am Boden einen dunkelroten, fast schwarzen Niederschlag. Die mikroskopische Untersuchung desselben zeigte, daß er aus sehr stark gefärbten Hefezellen und Stäbchenbakterien bestand; ungefärbte Stäbchen wurden nicht vorgefunden.

Die Reaktion der Flüssigkeit in beiden Reagenzgläsern blieb unverändert neutral.

Nachdem der Inhalt eines jeden Reagenzglases bis zum 20-fachen Volumen mit Wasser verdünnt war, wurde mit Fehlingscher Lösung titriert, was folgende Resultate ergab:

3*

Tabelle 2.

No. der Reagenzgläser	Intensität der Färbung	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 4	grellrot	5,3
No. 5	dunkelrot	40,0

Wenn wir jetzt die Tabelle 1 mit der Tabelle 2 vergleichen, so sehen wir, daß während im Reagierglas No. 2 mit dunkelroter Flüssigkeit nach 48 Stunden noch gar keine Inversion des Zuckers stattfand, im Reagenzglas No. 5 mit gleichgefärbter Flüssigkeit dagegen doch nach Verlauf von 5 Tagen schon eine, obgleich sehr schwache, Einwirkung des Invertins auf den Zucker bemerkbar war.

Bei der Untersuchung der Flüssigkeit aus dem Reagenzglas No. 4 (grellrote Färbung) erwies sich fast der ganze Zucker invertiert.

Da an den vorhergehenden Tagen die Flüssigkeit dieser Färbung wegen Zeitmangels nicht analysiert werden konnte, so blieb es unbestimmt, wie rasch die Inversion hier stattgefunden hat. Zieht man jedoch in Betracht, daß ein Teil des Rohrzuckers in der Flüssigkeit noch unverändert blieb, so muß man annehmen, daß auch hier die Inversion durch den Fuchsinzusatz verlangsamt war.

Von den zurückgebliebenen Reagenzgläsern benutzte ich No. 6 mit rosagefärbter und No. 7 mit grellroter Flüssigkeit zur Lösung der Frage, welchen Einfluß eine noch längere Wirkung des Fuchsin auf das Invertin haben würde. Zu diesem Zwecke verblieben diese Reagenzgläser vom Beginne des Versuches an im Brutschrank bei 34° C bis zum 28. Aug., d. h. während 10 Tagen. Danach wurden in jedes 5 ccm sterilisierter 20-proz. wässriger Rohrzuckerlösung zugegossen und wieder in den Brutschrank bei 34° C gestellt.

In dem Reagenzglas No. 6 mit rosagefärbter Flüssigkeit hatte die Farbe im Laufe der erwähnten 10 Tage keine Veränderung erfahren. Die mikroskopische Untersuchung des Bodensatzes zeigte, daß derselbe aus ungefärbten Hefezellen und einer geringen Anzahl Stäbchenbakterien bestand.

In dem Reagenzglas No. 7 ist die Flüssigkeit grellrot geblieben, war dabei klar und enthielt einen dunkelroten Bodensatz; unter dem Mikroskop erwies es sich, daß letzterer aus intensiv gefärbten Hefezellen und Stäbchenbakterien bestand. Ungefärbte Elemente waren nicht zu finden.

Die Reaktion der Flüssigkeit war in beiden Reagenzgläsern eine neutrale.

24 Stunden nach Zusatz frischer Zuckerlösung wurden die Reagenzgläser No. 6 und 7 aus dem Brutschrank genommen, ihr Inhalt einzeln bis zum 20-fachen Volumen mit Wasser verdünnt und mit Fehling'scher Lösung titriert, was folgende Resultate ergab:

Tabelle 3.

No. der Reagenzgläser	Intensität der Färbung	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 6	rosa	5,1
No. 7	grellrot	5,2

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Fuchsin bei den gegebenen Versuchsbedingungen, selbst nach 10-tägiger Einwirkung bei 34° C, das Invertin nicht zerstört hat.

Da die beschriebenen Beobachtungen eine unzweifelhafte Einwirkung des Fuchsins auf das Invertin erkennen ließen, so gingen wir zur Bestimmung jener Konzentrationen über, bei welchen die Fuchsinwirkung bemerkbar zu werden beginnt.

Um jedoch eine konservierende Wirkung des Zuckers auf das Invertin zu vermeiden, wurden die wässerigen Farbstoff- und Fermentlösungen ohne Zusatz von Zucker angewandt.

Demgemäß wurde am 31. Aug. eine Lösung von 1 g Fuchsin in 1000 ccm sterilisierten Wassers bereitet und diese dunkelrote Flüssigkeit zu je 5 ccm in sterilisierte Reagenzgläser gefüllt, nachher aber nicht mehr sterilisiert. An demselben Tage wurde in drei dieser Reagenzgläser (No. 1, 2 und 3) je so viel von dem Invertin zugesetzt, soviel eine Platinöse von dem Pulver fassen konnte; nach starkem Durchschütteln kamen die Reagenzgläser in den Brutschrank bei 34° C.

Bei der Besichtigung derselben am 2. Sept. erschien die Flüssigkeit in ihnen fast klar. Die mikroskopische Untersuchung zeigte intensiv gefärbte Hefezellen und Stäbchenbakterien; ungefärbte Mikroorganismen waren nicht zu finden. Die Aussaaten, welche aus dem Reagenzglas No. 3 zu je einigen Tropfen der Flüssigkeit in ein Reagenzglas mit saurer Bouillon mit 10 Proz. Glukose und in ein anderes mit 5 ccm sterilisierter wässriger 20-proz. Rohrzuckerlösung angefertigt wurden (wie die Bouillon nahm auch die Rohrzuckerlösung eine intensiv rote Färbung an, die bedeutend stärker war, als die „dunkelrote“ in den Reagenzgläsern der vorhergehenden Versuchsreihe), wiesen bei 34° C im Laufe eines Monats nicht die geringste Spur von Entwicklung der Mikroorganismen auf.

Am 4. Sept., d. h. 48 Stunden nach Beginn des Versuches, wurden dem Inhalte des Reagenzglases No. 1 (wässrige Lösung von Fuchsin und Invertin ohne Zucker) 5 ccm einer 20-proz. Rohrzuckerlösung zugesetzt, wonach das Gemisch wieder in den Brutschrank bei 34° C kam.

Am 6. Sept. wurde die Flüssigkeit mit Fehlingscher Lösung titriert, doch fand dabei keine Reduktion des Kupfers statt.

Folglich hat das Fuchsin bei einer Konzentration von 1:1000 und bei den gegebenen Versuchsbedingungen auf das Invertin, wenn nicht eine zerstörende, so doch unzweifelhaft eine verzögernde Einwirkung ausgeübt.

Nachdem ich mich über die maximale Konzentration des Fuchsins orientiert hatte, bei der die Einwirkung des Farbstoffes auf das Invertin ganz deutlich war, bereitete ich Fuchsinlösungen in den Proportionen von 1:1000, 1:2000, 1:3000 und 1:4000 Wasser ohne Zusatz von Zucker, welche danach zu 5 ccm in Reagenzgläser gefüllt wurden. Da aber die desinfizierende Wirkung des Fuchsins bei schwachen Konzentrationen desselben wenig wahrscheinlich erschien, so wurden die Lösungen, nachdem sie in Reagenzgläser ge-

füllt, zur Verhütung eventueller Verunreinigung durch fremde Mikroorganismen, 3 Tage der Reihe nach je 1 Stunde in strömendem Dampfe sterilisiert. Nach der Sterilisation hatte sich ein Teil des Fuchsins aus den Lösungen ausgeschieden und als violetter Niederschlag am Boden und an den Wänden der Reagenzgläser abgesetzt. In den Reagenzgläsern mit der Lösung von der Konzentration von 1:4000 hatte die Flüssigkeit sogar ein vollkommen farbloses Aussehen erhalten; doch in den Gläsern mit den stärkeren Konzentrationen behielt die Flüssigkeit eine noch ziemlich intensive Färbung.

Am 11. Okt. wurde in diese Reagenzgläser ungefähr ebensoviel Invertin zugesetzt, wie in den vorhergehenden Versuchen, danach kamen sie in den Brutschrank bei 34° C.

Am 13. Okt., d. h. nach 2 Tagen, wurden in die Reagenzgläser mit den Fuchsinlösungen No. 1 mit Lösung 1:1000, No. 2 mit 1:2000, No. 3 mit 1:3000 und No. 4 mit 1:4000, in jedes 5 ccm einer sterilisierten 20-proz. Rohrzuckerlösung zugegossen und die Gemische dann in den Brutschrank bei 34° C gestellt.

Nach 24 Stunden wurde der Inhalt eines jeden dieser Reagenzgläser, der in allen eine neutrale Reaktion aufwies, bis auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und mit Fehlingscher Lösung titriert. Die Resultate hiervon waren folgende:

Tabelle 4.

No. der Reagenzgläser	Konzentration der Fuchsinlösung	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 1	1:1000	7,3
No. 2	1:2000	5,0
No. 3	1:3000	5,4
No. 4	1:4000	4,8

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß im Gegensatz zum vorhergehenden Versuche im Reagenzglas No. 1 mit Lösung 1:1000 doch eine Inversion des Zuckers stattgefunden hat, obgleich in geringerem Maße, als in den Gläsern mit Lösungen von schwächeren Konzentrationen. Dieser Widerspruch findet seine Erklärung darin, daß ein Teil des Fuchsins durch Sterilisation aus der Lösung ausgefällt wurde, woher die Konzentration derselben eine schwächere als 1:1000 war.

Am 21. Okt., d. h. 10 Tage nach Zusatz des Invertins, wurden in die Reagenzgläser No. 5 mit Fuchsinlösung 1:1000, No. 6 mit 1:2000, No. 7 mit 1:3000, No. 8 mit 1:4000, welche die ganze Zeit im Brutschrank bei 34° C gestanden hatten, je 5 ccm 20-proz. Rohrzuckerlösung zugegossen, wonach sie wieder in den Brutschrank bei 34° C kamen.

Nach 24 Stunden wurde der Inhalt eines jeden Reagenzglases bis auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und mit Fehlingscher Lösung titriert; die Resultate hiervon zeigt:

(Siehe Tabelle 5 auf p. 39.)

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Invertin nach 10-tägigem Verweilen in einer Fuchsinlösung von der nominellen Konzentration von 1:1000 bei den gegebenen Versuchsbedingungen

Tabelle 5.

No. der Reagenzgläser	Konzentration der Fuchsinlösung	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm	Anmerkung
No. 5	1 : 1000	100	Die Fehlingsche Lösung wurde nicht entfärbt
No. 6	1 : 2000	5,1	
No. 7	1 : 3000	5,2	
No. 8	1 : 4000	5,1	

seine Wirkung auf den Zucker eingebüßt hat, während in den übrigen Konzentrationen es seine gewöhnliche Kraft beibehalten hat.

Der Vergleich der Tabellen No. 4 und No. 5 zeigt, daß das Fuchsin für die Einwirkung auf das Invertin bei den gegebenen Versuchsbedingungen eine gewisse, ziemlich merkliche Zeit erfordert.

Um die Einwirkung auch anderer Anilinfarbstoffe auf das Invertin zu ermitteln, wurden Versuche mit Kongorot und mit Safranin angestellt.

2. Versuche über die Einwirkung von Kongorotlösungen auf das Invertin.

Für den Versuch wurde eine Lösung von 1 Teil Kongorot in 1000 Teilen einer 20-proz. Rohruckerlösung bereitet und zu 5 ccm in 6 Reagenzgläser gefüllt. Nach Zusatz des erwähnten Farbstoffes wurde die Flüssigkeit nicht sterilisiert.

Am 20. Aug. 1902 wurden in die Reagenzgläser No. 1, No. 4, No. 5, No. 6 und No. 7, welche die mit Kongorot gefärbte Zuckerlösung enthielten, soviel Invertin zugesetzt, als eine Platinöse fassen konnte. Nach ordentlichem Durchschütteln kamen sie alle mit Reagenzglas No. 2, welches die Kongorot-Zuckerlösung ohne Invertin enthielt, in den Brutschrank bei 34° C.

Die nach 24 Stunden vorgenommene Besichtigung der Reagenzgläser zeigte, daß die Kongorotlösung ihre Farbe nicht merklich verändert hat. In den Gläsern mit Invertin war eine geringe Trübung der Flüssigkeit und ein dunkelroter Bodensatz zu bemerken; letzterer bestand, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, aus Hefezellen und einer geringen Anzahl von Stäbchenbakterien. Das Protoplasma der Hefezellen war mehr oder weniger intensiv gefärbt, doch kamen auch einzelne ungefärbte Zellen vor. Die Flüssigkeit reagierte neutral. Der Inhalt der Reagenzgläser No. 1, No. 2 und No. 3 wurde einzeln bis auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und dann mit Fehlingscher Lösung titriert; die Resultate hiervon zeigt:

(Siehe Tabelle 6 auf p. 40.)

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Verweilen des Invertins während 24 Stunden bei 34° C in einer Kongorotlösung von der Konzentration 1:1000 und bei Gegenwart von 20 Proz. Rohrucker keinen merklichen Einfluß auf die Wirkungsfähigkeit des Ferments ausgeübt hat.

Tabelle 6.

No. der Reagenzgläser	Konzentration des Kongorot	Invertin war zugesetzt + oder nicht 0	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm	Anmerkung
No. 1	1 : 1000	+	5,5	Die Fehlingsche Lösung blieb unverändert
No. 2	1 : 1000	0	100	
No. 3	ohne Kongorot	+	8,0	

Bei dem Vergleichen dieser Tabelle mit Tabelle No. 1 kann man bemerken, daß die Inversion des Rohrzuckers in den ungefärbten Lösungen viel langsamer verlief, als in den gefärbten (s. Tabelle No. 6, Reagenzgläser No. 3 und No. 1, Tabelle No. 1, Reagenzgläser No. 3 und No. 1). Leider stand mir zu der Zeit dieser Versuche kein Saccharometer zur Verfügung und ich konnte daher nicht bestimmen, ob nicht vielleicht diese Erscheinung davon abhängt, daß in den ungefärbten Lösungen ein Teil des invertierten Zuckers durch die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen zerstört wird, welche hier in ihrer Entwicklung nicht von der desinfizierenden Wirkung der Anilinfarbstoffe behindert werden.

4 Tage nach Beginn des Versuches wurde in den Reagenzgläsern No. 4, No. 5, No. 6 und No. 7, welche Kongorot und Invertin in Lösung enthielten, eine Klärung der Flüssigkeit bemerkbar; der Farbstoff begann, sich in Form von kleinen, dunkelvioletten Flöckchen am Boden und an den Wänden der Reagenzgläser anzusammeln.

Am 26. Aug., d. h. am 6. Tage, erschien die Flüssigkeit in ihnen fast völlig entfärbt. In mehreren anderen Reagenzgläsern, welche gleichfalls Kongorot-Zuckerlösung enthielten, doch ohne Invertin, und in denselben Verhältnissen sich befanden, behielt die Flüssigkeit ihre ursprüngliche Färbung und Klarheit unverändert. Um zu ermitteln, ob nicht das Invertin nach so langem Verweilen in der Kongorotlösung irgend welche Veränderung erlitten, wurde am 26. Aug. der Inhalt des Reagenzglases No. 4 einer Untersuchung mit Fehlingscher Lösung unterworfen; zum Inhalt des Reagenzglases No. 5 aber wurden noch 5 ccm 20-proz. sterilisierter Rohrzuckerlösung zugegossen, wonach das Glas wieder in den Brutschrank bei 34° C gestellt und nach 24 Stunden gleichfalls mit Fehlingscher Lösung untersucht wurde.

Die Reaktion der Flüssigkeit war in beiden Reagenzgläsern vor dem Titrieren eine neutrale. Die Flüssigkeit aus Reagenzglas No. 4 wurde bis auf 100 ccm mit Wasser verdünnt, die aus Reagenzglas No. 5 bis auf 2000 ccm. Die Analyse ergab folgende Resultate:

Tabelle 7.

No. der Reagenzgläser	Konzentration des Kongorot	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 4	1 : 1000	4,8
No. 5	1 : 1000	5,0

Aus der Vergleichung dieser Tabelle mit Tabelle No. 6 ist ersichtlich, daß ein 6-tägiges Verweilen des Invertins in einer Kongo-

rotlösung von der Konzentration 1:1000 unter den gegebenen Versuchsbedingungen keinen merklichen Einfluß auf das Ferment ausgeübt hat.

Am 21. Okt., d. h. nach 62-tägigem Verbleiben im Brutschrank bei 34° C, wurden in die Reagenzgläser No. 6 und No. 7 je 5 ccm einer sterilisierten 20-proz. Rohrzuckerlösung zugegossen und dieselben wieder bei einer Temperatur von 34° C aufbewahrt.

Die Flüssigkeit in diesen Reagenzgläsern hatte von dem Zusatz einer neuen Portion Zuckerlösung ein farbloses Aussehen, am Boden aber befand sich ein dunkelvioletter Niederschlag. Im Brutschrank befanden sich während dieser ganzen Zeit einige Kontrollgläser, welche gleichfalls eine mit Kongorot gefärbte Rohrzuckerlösung, doch ohne Invertin, enthielten, auch in ihnen war die Flüssigkeit entfärbt; der ganze Farbstoff hatte sich als zarter schwarzer Belag am Boden und an den Wänden der Reagenzgläser abgesetzt.

Am 22. Okt. wies die Flüssigkeit in den Reagenzgläsern No. 6 und No. 7 eine deutlich saure Reaktion auf. Der Inhalt eines jeden Glases wurde bis auf 200 ccm mit Wasser verdünnt und mit Fehlingscher Lösung titriert. Die Resultate dieser Analyse veranschaulicht

Tabelle 8.

No. der Reagenzgläser	Konzentration des Kongorot	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 6	1:1000	5,2
No. 7	1:1000	5,3

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß nach 12-tägigem Verweilen des Invertins in einer Kongorotlösung von der Konzentration von 1:1000 die Inversion der frisch zugesetzten Portion Rohrzucker mit der gleichen Geschwindigkeit von statten ging, wie am ersten Tage der Einwirkung des Farbstoffes auf das Ferment (s. Tabelle No. 6, Reagenzglas No. 1), mit anderen Worten, daß das Kongorot in der Konzentration von 1:1000 keine Einwirkung auf das Invertin ausübt.

3. Versuche über die Einwirkung des Safranins auf das Invertin.

Am 22. Aug. wurde eine sterilisierte 20-proz. Rohrzuckerlösung dermaßen mit Safranin (in Pulverform) gefärbt, daß sich drei sich scharf unterscheidende Nuancen erhalten, eine schwache, eine mittlere und eine intensive. Diese Flüssigkeiten wurden zu 5 ccm in Reagenzgläser gefüllt und nachher nicht mehr sterilisiert. Außerdem enthielt ein Reagenzglas (No. 4) nur 5 ccm einer sterilisierten 20-proz. Rohrzuckerlösung ohne Zusatz von Safranin.

An demselben Tage wurde jedem dieser Reagenzgläser eine Platinöse Invertin zugesetzt, wonach sie alle durchgeschüttelt in den Brutschrank bei 34° C kamen.

Nach 24 Stunden wurde ein Teil derselben zur Untersuchung entnommen. Die Besichtigung dieser Reagenzgläser zeigte, daß in

No. 1 mit schwacher Safraninlösung die Farbe der Flüssigkeit nicht merklich verändert war; am Boden des Glases hatte sich ein dunkelroter Satz angesammelt, welcher unter dem Mikroskop aus Hefezellen und einer geringen Anzahl Stäbchenbakterien bestand. Die Hefezellen waren entweder gar nicht oder sehr schwach tingiert; die Bakterien dagegen hatten gar keinen Farbstoff aufgenommen.

Im Reagenzglas No. 2 mit Safraninlösung von mittlerer Stärke war die Farbe der Flüssigkeit gleichfalls dem Aussehen nach unverändert geblieben. Am Boden des Glases befand sich ein dunkelroter Satz, welcher, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, aus mehr oder weniger intensiv gefärbten Hefezellen und Stäbchenbakterien bestand. Ungefärbte Mikroorganismen waren nicht zu finden.

Im Reagenzglas No. 3 mit Safraninlösung von intensiver Färbung war die Farbe der Flüssigkeit auch nicht merklich verändert, am Boden des Glases befand sich ein fast schwarzer Satz, welcher hier, wie das Mikroskop zeigte, nur aus intensiv gefärbten Hefezellen und Stäbchenbakterien bestand; ungefärbte Elemente waren nicht vorhanden.

Im Reagenzglas No. 4 mit sterilisierter 20-proz. Rohrzuckerlösung Invertin, doch ohne Safranin, war die Flüssigkeit farblos mit kaum merklicher Opaleszenz, am Boden des Glases hatte sich ein weißer Satz angesammelt, welcher unter dem Mikroskop aus Hefezellen und fadenförmigen Bakterien bestand.

Die Reaktion der Flüssigkeit war in allen Reagenzgläsern eine neutrale. Der Inhalt eines jeden Glases wurde bis zum 20fachen Volumen mit Wasser verdünnt und mit Fehlingscher Lösung titriert. Die Resultate hiervon zeigt

Tabelle 9.

No. der Reagenzgläser	Konzentration der Safraninlösung +. Kein Safranin 0	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 1	+	9,5
No. 2	+ +	13,5
No. 3	+ + + +	30,0
No. 4	0	5,0

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Safranin einen unzweifelhaften Einfluß auf die Inversion des Rohrzuckers ausgeübt hat, und daß dieser Einfluß der Konzentration der Farbstofflösung proportional ist.

Die Reagenzgläser No. 6 mit starker Safraninlösung und No. 5 (mit Safraninlösung von mittlerer Konzentration), welche vom Anfang des Versuches an die ganze Zeit im Brutschrank bei 34° C standen, dienten zur Aufklärung der Frage über das Schicksal des Invertins nach langem Verweilen in einer mit Safranin gefärbten Zuckerlösung. Am 28. Aug., d. h. 6 Tage nach Beginn des Versuches, wurden dieselben zu je 5 ccm einer sterilisierten 20-proz. Rohrzuckerlösung zugegossen, wonach sie wieder in den Brutschrank bei 34° C kamen.

Der Inhalt des Reagenzglases No. 6 wurde nach 24 Stunden

untersucht, derjenige des Reagenzglases No. 5 dagegen nach 48 Stunden; dabei erwies es sich, daß die Flüssigkeit in ihnen klar und deutlich gefärbt war; am Boden befand sich ein dunkelroter Satz, welcher, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, nur aus tingierten Hefezellen bestand. Die Reaktion der Flüssigkeit war in beiden Reagenzgläsern eine neutrale. Der Inhalt eines jeden Glases wurde bis zu 200 ccm mit Wasser verdünnt und mit Fehlingscher Lösung titriert, was folgende Resultate ergab:

Tabelle 10.

No. der Reagenzgläser	Konzentration der Safraninlösung	Wie viel Stunden das Invertin auf die 2. Portion Zucker einwirkte	Die verbrauchte Menge der verdünnten Zuckerlösung in ccm
No. 5	+ +	48	5,5
No. 6	+ + +	24	11,7

Aus der Vergleichung dieser Tabelle mit der vorhergehenden ist zu ersehen, daß das Invertin nach dem 6-tägigen Verweilen bei einer Temperatur von 34°C in einer starken und mittelstarken Safraninlösung seine Fähigkeit, Rohrzucker zu invertieren, nicht verloren hat. Zieht man noch zum Vergleich die Resultate, welche in den Tabellen No. 3 und No. 7 zusammengestellt sind, hinzu, so bemerkt man, daß nach dem Zugießen zu der mit Safranin gefärbten Invertinlösung die Wirkung des Ferments viel energischer auftritt als früher. Die beschriebenen Versuche gestatten noch nicht, sich über die Ursache dieser Erscheinung zu orientieren; möglicherweise ist der Grund derselben darin zu suchen, daß das Invertin eventuell mit dem Anilinfarbstoff eine unbeständige Verbindung bildet, welche in verdünnteren Lösungen wieder zerstört wird.

Um die erhaltenen Resultate mit den Prozessen in lebender Kultur zu verbinden, stellte ich noch einige Versuche an mit Hefekulturen in Rohrzucker enthaltenden Substraten, zu denen gewisse Anilinfarbstoffe zugesetzt waren. Hier will ich nur die Resultate anführen, welche erhalten wurden mit Hefekulturen in neutraler Bouillon mit 20 Proz. Rohrzucker, wobei zu dem Substrat Fuchsin in Mengen von 1:1000, 1:2000, 1:3000 und 1:4000 zugesetzt war. Die nötige Hefereinkultur hatte ich aus gewöhnlicher käuflicher Preßhefe gezüchtet. Die so erhaltene Rasse hatte die Eigenschaft, sich energischer bei Gegenwart von Rohrzucker als von Glykose zu entwickeln. Kultiviert wurde sie bei einer Temperatur von 34°C .

Um einer eventuellen Verunreinigung der Kulturen mit geringem Gehalt an Fuchsin durch fremde Mikroorganismen vorzubeugen, wurde vor dem Versuch die Bouillon nach Zusatz des Fuchsins in den erwähnten Mengen 3 Tage der Reihe nach je 1 Stunde einer Sterilisation im strömenden Dampf unterworfen, infolgedessen hatte sich in den Reagenzgläsern ein Teil des Farbstoffes als Bodensatz abgeschieden.

Die Reagenzgläser wurden alle gleichzeitig und mit gleicher Menge (einer Platinöse) einer eintägigen Hefekultur infiziert.

Die Resultate des Versuches sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 11.

No. der Reagenz-gläser	Konzentration des Fuchsins	Nach wie viel Tagen die Gärung begonnen	Mittelzahl in Tagen
No. 1	ohne Fuchsin	1	1
No. 2	" "	1	
No. 3	" "	1	
No. 4	" "	1	
No. 5	1:4000	7	7
No. 6	1:4000	7	
No. 7	1:4000	7	
No. 8	1:4000	7	
No. 9	1:3000	17	15,5
No. 10	1:3000	15	
No. 11	1:3000	14	
No. 12	1:3000	16	
No. 13	1:2000	27	25
No. 14	1:2000	21	
No. 15	1:2000	26	
No. 16	1:2000	26	
No. 17	1:1000	Nach Verlauf von 26 Tagen ist noch keine Entwicklung zu bemerken, d. Bodensatz hat sich auch als steril erwiesen	∞
No. 18	1:1000		
No. 19	1:1000		
No. 20	1:1000		

Diese Tabelle zeigt, daß die Hefe sich als sehr empfindlich gegen die Gegenwart des Fuchsins in der Nährflüssigkeit erwiesen hat. Schon bei der nominellen Konzentration von 1:4000 war eine merkliche Verzögerung ihrer Entwicklung zu beobachten, bei der nominellen Konzentration von 1:1000 aber konnte nicht nur kein Wachstum der Hefe konstatiert werden, sondern auch die hieraus gemachten Aussaaten blieben vollkommen steril. Zwischen diesen äußersten Grenzen war die Energie der Entwicklung von der Menge des im Nährsubstrat befindlichen Fuchsins abhängig; je schwächer die Konzentration des Farbstoffes war, desto schneller vermehrte sich die Hefe und umgekehrt.

Unterwirft man die Hefekulturen in den mit Anilinfarbstoff gefärbten Nährmedien einem systematischen Studium unter dem Mikroskop, so kann man folgende Erscheinung beobachten: Anfangs ist die größte Mehrzahl der Hefezellen intensiv gefärbt. Mit der Zeit beginnen auch einzelne ungefärbte Zellen aufzutreten, deren Anzahl so gering ist, daß sie nur mit großer Mühe aufgefunden werden können. Wenn die Probe dem Bodensatz sehr vorsichtig entnommen war, so daß die genetische Gruppierung der Zellen erhalten blieb, konnte beobachtet werden, wie eine ganze Reihe von Generationen mehr oder weniger intensiv tingierter Zellen eine oder nur etliche ungefärbte Zwischenzellen aufwies. Dieses macht den Eindruck, als ob die Hefezellen sich durch einen verschiedenen Grad der Widerstandsfähigkeit gegen die Anilinfarben voneinander unterscheiden, wobei diese Widerstandsfähigkeit, wenigstens anfangs, nicht vom Alter abhängt und nicht der ganzen folgenden Generation übergeben wird, sondern nur einigen Individuen zu eigen wird. Späterhin vermehrt sich die Zahl der ungefärbten Zellen immer

mehr und mehr, schließlich kann solch ein Moment eintreten, daß gefärbte Zellen im Präparat nur ausnahmsweise angetroffen werden.

Als Resultat hiervon macht sich in der Nährflüssigkeit eine Gärung bemerkbar; der Alkohol, welcher dabei gebildet wird, entzieht den toten Zellen den Farbstoff, wodurch dessen Konzentration in der Lösung wieder steigt und die Zahl der tingierten Zellen abermals zuzunehmen beginnt. Bei Gegenwart einer großen Menge des Farbstoffes in der betreffenden Nährlösung kann infolgedessen ein vollständiges Aussterben der Hefe stattfinden, dagegen kann in schwach gefärbten Lösungen die Hefe den Farbstoff völlig neutralisieren und es sammelt sich dann am Boden und den Wänden des Reagenzglases ein weißer Niederschlag an.

Wenn wir jetzt die Resultate, welche die Hefekulturen in mit Fuchsin gefärbten Nährlösungen ergeben haben (s. Tabelle No. 11), mit den weiter oben beschriebenen Resultaten der Versuche an Invertin in Lösungen desselben Farbstoffes (s. Tabelle No. 4 und No. 5) vergleichen, so ersehen wir, daß die Hefe bedeutend empfindlicher gegen das Fuchsin ist als das Invertin.

Zum Schluß erlaube ich mir die Resultate der geschilderten Versuche folgendermaßen zu formulieren:

1) Die Anilinfarbstoffe üben unzweifelhaft auf das Invertin eine Wirkung aus.

2) Diese Wirkung ist direkt abhängig von der Molekularstruktur des Farbstoffes.

3) Augenscheinlich wird das Invertin während seines Verweilens in den Farbstofflösungen gewisser Konzentrationen nicht zerstört, sondern geht mit dem Farbstoff eine unbeständige Verbindung ein, welche sich dem Rohrzucker gegenüber indifferent verhält, dagegen ist ein Zusatz von frischer Zuckerlösung schon genügend, um erwähnte Verbindung zu zerstören und wenigstens einen Teil des Invertins, wenn nicht das ganze, zu befreien.

Gegenwärtig bin ich mit dem Studium über die Einwirkung der Anilinfarbstoffe auf andere Fermente, Toxine, Immun- und Antikörper beschäftigt, dessen Erfolge ich gleichfalls bald veröffentlichen zu können hoffe.

Nachdruck verboten.

Die Verwendung der biologischen Methode zur Auf- findung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit be- sonderer Berücksichtigung der Wicke.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin. Direktor: Prof.
Dr. L. Pagliani.]

Experimentelle Studien.

Von Dr. E. Bertarelli, Privatdocent.

(Schluß.)

Bezüglich der zum Erhalten eines spezifischen präzipitierenden Serums nötigen Zeit versichern die wenigen Autoren, die sich mit

diesem Argumente beschäftigt haben, bezüglich der vegetalen Albumine, daß man die Behandlung der Tiere 7—8 Wochen lang fortsetzen müsse. Ich habe jedoch bei starken Tieren beobachtet, daß, wenn man jeden 2. Tag Injektionen vornimmt, die Reaktion bei bedeutender Verdünnung auch nach 4 Wochen sehr deutlich ist, in einem Falle hatte das Serum sogar schon nach 16 Tagen Niederschlagsfähigkeit besessen. Im allgemeinen ist es jedoch in der Praxis ratsam, bei der Behandlung mit Vorsicht vorzugehen, und deshalb, der größeren Sicherheit wegen, sich des subkutanen Weges zu bedienen und zuerst 6—7 ccm nicht übersteigende Dosen von Albumose einzuführen, bei Inokulation an jedem 3. oder 4. Tage und Ausdehnung der Behandlung auf wenigstens 6—7 Wochen.

Die nach diesem Zeitabschnitt ausgeführten Inokulationen scheinen, abgesehen von der Wicke, als wirksamer Faktor zur Erhöhung der Kraft des Serums nicht in Betracht zu kommen.

Interessant ist auch die Frage, ob das für eine der angewandten Leguminosenqualitäten spezifische Serum mit den Abarten derselben Leguminose reagiert. In dieser Absicht habe ich das Immunserum der Bohne mit dem Aufguß der verschiedenen Bohnenarten probiert und in derselben Weise das Immunserum der Wicke (*Vicia sativa*) mit den Aufgüssen von *Vicia silvatica* und *Vicia lutea*. Alle beiden Serumarten haben mit allen verwandten Bohnen- resp. Wickenarten spezifische Niederschläge geliefert, trotz nicht konstanter Sensibilität. Für die Praxis ist diese Tatsache nun sicherlich interessant, wenngleich ich angesichts der spärlichen Zahl von Versuchen noch nicht geradezu behaupten kann, daß alle Arten einer gegebenen Leguminose mit dem Immunserum einer derselben reagieren.

Zuletzt habe ich dann versucht, ein Tier gleichzeitig gegen zwei verschiedene Materien zu immunisieren, doch war das Resultat wenig ermutigend, nicht allein, weil einige Tiere die Injektionen schlecht ertrugen, sondern auch, da in den 7 Wochen lang behandelten das Serum ein äußerst spärliches Niederschlagsvermögen besaß und die erhaltenen Daten sich untereinander widersprachen.

Kann die Verwendung der von Wassermann¹⁾ vorgeschlagenen Methode für die Diagnose der Albumine nun wirklich praktisch dienen, wenn es sich darum handelt, die in einem Mehle vor-

1) Wassermann und Schütze machen in einer ihrer letzten Arbeiten (Wassermann, A. und Schütze, A., Ueber die Entwicklung der biol. Meth. z. Unters. v. menschl. u. tier. Eiweiß mittels Präzipitinen [Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 27]) die Studierenden besonders auf die Priorität in der Verwendung der biol. Methode zur Unterscheidung der Albumine aufmerksam und erinnern daran, daß

- 1) Krause zuerst die Bildung der Präzipitine beobachtete,
- 2) Tschistowitsch-Bowet zuerst beobachteten, wie die verwandten Albuminearten analog reagieren,
- 3) Bowet, Nolf, Ehrlich, Morgenroth etc. sich dann mit den verschiedenen Präzipitinproblemen beschäftigten,
- 4) Wassermann als erster die Präzipitine zum Studium und zur Unterscheidung der verschiedenen Albumine verwandte.

handenen Leguminosenspezies aufzusuchen und zu determinieren, besonders aber zur Determination der Wicke?

Um auf diese Frage antworten zu können, unternahm ich zahlreiche Versuche mit Mehlen, die ich absichtlich mit den verschiedenen Leguminosen fälschte, und mit verschiedenartig präparierten Handelsmehlen, wonach ich mit den Aufgüssen dieser Mehle die gewöhnliche Reaktion herbeiführte.

In der Praxis aber bin ich sofort auf einige große Schwierigkeiten gestoßen.

Wenn ich z. B. einem kg Getreidemehl 20—30 g Wickemehl hinzufügte und dann der Mischung vorsichtig 30—40 g entnahm zur Präparation des Aufgusses, kam es vor, daß in der entnommenen Probe zuweilen fast keine Wicke war, womit also die präzipitierende Reaktion ausbleiben konnte. Auch ist nicht daran zu denken, daß eine sorgsame Mischung dem Mißstande abhelfen könne, denn zuweilen existieren, trotz bester Mischung, bedeutende Unterschiede zwischen der einen und der anderen Probe derart, daß der Fall eintritt, daß die vorhandene Quantität von Albumosen nicht genügt, um die präzipitierende Reaktion hervorzurufen.

Damit dann die Reaktion einen wirklichen Wert besitzt, muß sie in nicht unter 1:500 stehender Verdünnung des zu untersuchenden Materials vor sich gehen und überdies muß die gesuchte Materialsquantität sich in der in Prüfung befindlichen Mischung wenigstens in einer Proportion vorfinden, die es ausschließt, daß die Verdünnungen ihrem Werte nach unter 1:3000 der zu determinierenden Substanz stehen. An einem Beispiele erklärt, will dies heißen: Wenn wir in einem beliebigen Speisemehle nach Wicke suchen, so müßte vor allem nachgewiesen werden, daß in dem Mehle eine solche Quantität von Wicke vorhanden ist, daß bei Präparation eines Aufgusses von 100 g Mehl und 300 g physiologischer Lösung sich in dem Aufgusse wenigstens soviel Wickenalbumose findet, wie in einem Aufgusse von 1 g Wicke und 3 l physiologischer Lösung existierte.

Diese Vorbedingung ist nun in der Praxis tatsächlich direkt immer gegeben, denn die Gegenwart infinitesimaler Spuren hat durchaus keinen Wert; was uns allein interessiert, ist die Verfälschung oder das zufällige Vorhandensein von Wicke und minderwertigen Leguminosen in Quantitäten, die dem Aufguß eine Reaktion mit spezifischem Immunsorum ermöglichen.

Eher wird schon in der Praxis der Fall eintreten, daß wir bei Verwendung von Wickeimmunsorum einen Niederschlag erhalten, aber nicht im stande sind, gegenüber der in dem geprüften Mehl enthaltenen Wicke den Verdünnungsgrad ausfindig zu machen.

Auch ich habe es versucht, dieses Problem praktisch zu lösen, indem ich so schwache Aufgußverdünnungen der in Prüfung befindlichen Mehle verwandte, daß die reinen Kontrollmehle kein Präzipitat mehr lieferten, während die mit Wicke verfälschten Mehle es noch abgaben, wenn auch nur spärlich. So nahm ich von einem Mehl, das 2 Proz. Wicke enthielt, 50 g und machte einen Aufguß mit 150 g physiologischer Lösung. Die Probe machte ich

dann mit dem reinen Aufguß und mit dem 10—20—40 mal mit anderer physiologischer Lösung verdünnten und suchten damit festzustellen, bis zu welcher Grenze die Reaktion eintreten könne. Da mir nun bekannt war, daß die spezifische Reaktion der Wicke bis zur Grenze von 1:3—4000 eintritt, hielt ich dafür, daß das Verdünnungsmaximum, mit dem ich noch einen Niederschlag haben konnte, gerade einer Wickeverdünnung von 1:3—4000 entspräche.

Nehmen wir zum Beispiel an, daß ich in unserem Falle mit einer Verdünnung von 1:20 des primitiven Aufgusses noch Niederschlag erhalten, derselbe aber mit schwächeren Verdünnungen gefehlt hätte, so würde ich der Ansicht gewesen sein, daß eine Verdünnung 1:20 meines Aufgusses einen Wickeaufguß von 1:3—4000 entspreche. (Unzweifelhaft sind Vergleichsproben mit dem Aufgusse absolut reiner Mehle und Wickemehle bekannten Grades eine gute Vorsichtsmaßregel.) Wenn nun dieser Abguß einem anderen von 1:4000 entspricht, und wenn man außerdem weiß, daß der primitive Aufguß schon mit einem Teile Mehl auf 4 Teile physiologischer Lösung gemacht worden war, so ginge daraus hervor, daß eine Lösung von 1:80 des in Prüfung befindlichen Mehls mit Wickenimmunserum reagieren müsse, wie ein Wickenmehl von ca. 1:4000, oder mit anderen Worten, daß das verwandte Mehl schon 50 mal verdünnte Wicke enthalte (Proportion zwischen $\frac{1}{80}$ und $\frac{1}{4000}$), was dasselbe heißt, wie wenn ich sagte, daß die Wicke sich in dem Mehle im Verhältnis von 1:50 (oder 2 Proz.) vorfindet.

In der Praxis mußte man also in folgender Weise vorschreiten: Einem verdächtigen Mehle gegenüber verifiziert man am Mikroskop, ob Leguminosenstärkekörner vorhanden sind. Daraufhin nimmt man 50 g des gut durcheinandergerührten Mehles und macht mit 150 g physiologischer Lösung einen Aufguß. Mit dem Aufguß werden dann gradweise bekannte Verdünnungen hergestellt. Zur Untersuchung wird ein ebenfalls bekanntes Immunserum verwandt. Diese Empfindlichkeit des Serums wird zuerst festgestellt, indem man Verdünnungen anwendet mit bekannten Quantitäten im Laboratorium pulverisierter Wicke ¹⁾.

1) Während ich die Korrekturen machte, wurde die Arbeit von Wassermann und Schütze, Ueber die Spezifität der Eiweißpräzipit.-Sera und deren Wertbemessung für die Praxis (Deutsch. med. Wochenschr. 1903. 11. März) publiziert. — In dieser Arbeit geben die Autoren genaue Erklärungen ab über das, was sie unter normalem präzipitierendem Serum und präzipitierender Einheit verstehen. Die von ihnen angegebene Methode zur Bestimmung des Titels des Serums ist sehr logisch und praktisch. Es ist jedoch Tatsache, daß man zu Nachforschungen, bei denen man von einem qualitativ bekannten Immunserum und einer qualitativ unbekannten präzipitablen Substanz ausgeht, von der man auch eine quantitative Probe haben will, nicht eine Verdünnung des Serums (präzipitierende Substanz), sondern eine Verdünnung des untersuchten Materials (präzipitabile Substanz) verwenden kann. Verwendet man aber Serumverdünnungen mit konstanten Quantitäten der in Prüfung befindlichen Substanz, so gelangt man zweifelsohne, wenn man einem den von mir angegebenen analogen Raisonnements folgt, auch zu genauen quantitativen Bestimmungen mit dem bedeutenden Vorteil einer großen quantitativen Ersparnis an Immunserum. — Offenbar wird es von Nutzen sein, die Bestimmungen den Normen der beiden genannten Autoren anzupassen, was mir bis jetzt unmöglich war, da meine Vorräte von Immunserum ganz erschöpft sind.

Nach erfolgter Reaktion und Anfertigung von Vergleichsproben mit absolut wickenlosen Mehlen stellt man fest, welches die Minimalverdünnung ist, mit der das Immunserum noch reagiert hat (wobei man eine Reaktion für positiv nur dann gelten läßt, wenn sie nicht auch in einer sicherlich wickenlosen Mehlsprobe eingetreten ist). Hält man sich dann den Wert dieser Lösung gegenwärtig, so ist es ein leichtes, festzustellen (wie im vorerwähnten Beispiele), in welcher Quantität die Wicke vorhanden war. Würde sich nun ergeben, daß die Wicke in großen Quantitäten da war, während das Mikroskop ein derartiges Verhältnis zwischen Leguminosenkörnern und den die Base des Mehles bildenden Getreidekörnern nicht anzeigte, muß man wohl daran festhalten, daß der Niederschlag entweder nicht spezifisch oder daß die Reaktion schlecht ausgeführt war. Kommt dagegen die Reaktion mit sehr kleinen Wickenspuren entsprechenden Verdünnungen zu stande, so läßt sich daraus natürlich der Schluß ziehen, daß die Reaktion wirklich spezifisch ist und es sich unzweifelhaft um Gegenwart von Wicken handelte, was sich jedenfalls mit Vergleichsproben mit reinen Mehlen neuerdings herausstellte.

Diese Raisonsnements sind nun in Wahrheit nicht dazu ange-
tan, die Methode praktisch elegant und biologisch sehr interessant werden zu lassen, und es will mir scheinen, daß diese der Verwendung der biologischen Methode zu einigen Nachforschungen über Albumine anhaftenden Schwierigkeiten (die existieren, wenn man die Untersuchungen genau vornehmen will) von verschiedenen Autoren ¹⁾, die sich mit dem Werte der Präzipitine bei der Differentialdiagnose der Albumine beschäftigten, nicht angeführt worden sind.

Und leider stehen einer Verwendung der biologischen Methode große Schwierigkeiten im Wege, an die erinnert werden muß. Vor allem sind da, wenigstens für die Pflanzenalbumine, die Immunsera, die die Behandlung vieler Tiere nötig machen, da viele während der Immunisation erliegen. Ueberdies ist — und dieser Fall tritt am häufigsten ein — die Serumabgabe kleiner Tiere ungenügend, um den Bedarf für ausgedehnte praktische Applikationen decken zu können. Dann ist auch die Aufbewahrung der Immunsera schwierig; ich habe die verschiedenen von Uhlenhuth und Carrin vorgeschlagenen Methoden probiert, sowie das Reaktivpapier Nuttalls, die Ottolenghi zu anderen Zwecken für vortrefflich erklärte. Auch habe ich es versucht, das möglichst aseptisch angesammelte Serum mit Kampfer oder Chloroform in sterilen Röhren zu konservieren, die nach Applikation des Vakuums an der Lampe geschlossen worden waren. Doch waren die praktischen Resultate entmutigend, denn keine der Methoden ist im stande, in praktisch nützlicher Form länger als einige Wochen zu konservieren, auch das Nuttallsche Reaktivpapier, das wirklich einer praktischen Konservationsmethode nahe kommt, ver-

1) Rostoski, Ueber den Wert der Präzipitine als Unterscheidungsmittel für Eiweißkörper. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 28.)

liert nach 30—40 ziemlich an Sensibilität, und was noch schlimmer ist, der Verlust dieser Sensibilität unterliegt bedeutenden Schwankungen. Bei den im Hohlraume aufbewahrten Sera hat man dann zuweilen Bildung eines spärlichen Niederschlags. Sensibilitätsverminderung derart, daß das Wickenimmunserum einer Tube, das bei 1:3000 noch aktiv war, nach 2 Monaten kaum noch bei 1:900 reagiert!

Diesen Beobachtungen, welche die exakte Kenntnis der Praktikabilität und der so interessanten und sensibeln biologischen Methode gegenüber anraten muß, könnte man noch hinzufügen, daß in einigen Fällen die Untersuchung mit Immunseris nur einem Teile der Anforderungen entspricht, die die bromatologischen Untersuchungen stellen. Es wäre nicht schwer, eine Anzahl von Beispielen aufzuführen, doch sei hier deren nur eines gegeben, wonach es leicht ist, zu begreifen, weshalb die G. von Rieglersche¹⁾ Probe zur Prüfung des Honigs praktisch nicht verwendbar ist. Dieser Autor verwendet also die biologische Methode zur Untersuchung des Honigs; nun wird aber jedermann einsehen, daß eine solche Prüfung immer positiv ausfallen wird, wenn der Verfälscher bei Honigverfälschungen nicht so einfältig und schamlos ist, in seiner gefälschten Honigmischung nicht zum mindesten die 10—20 Proz. Honig zu lassen, die für eine positive Probe erforderlich sind. Vielleicht könnte man mit der Bestimmung der Sensibilitäts extreme auch die Quantität des wahren Honigs ausfindig machen, doch kann diese Probe nicht von allen angestellt werden, ohne der Gefahr stärkerer Irrtümer anheimzufallen.

Dies schließt nun nicht aus, daß solche Proben auch auf bromatologischem Gebiete immer dann zur Verwendung kommen müssen, wenn man, wie Michaelis und Oppenheimer²⁾ bemerken, die präzipitierende Reaktion im Sinne einer fermentativen, quantitativ wirkenden Reaktion gebraucht, und wenn diese Anwendung unzweifelhaft zur Demonstration eines bestimmten Körpers dient. In diesem Falle können die präzipitierenden Proben auch in der Bromatologie gute Dienste leisten. Nachdem also einmal die absolute Spezifität der Immunsera für die Albumine des Pferdefleisches gegeben und anerkannt ist, begreift man, wie die Methode allemal mit Vorteil angewandt werden kann, wo es sich darum handelt, Pferdefleisch ausfindig zu machen, um so mehr, als es in diesen Fällen zur Beweisführung der Fälschung doch hauptsächlich darauf ankommt, die Gegenwart von Pferdefleisch festzustellen — auch ohne quantitative Angaben. In dem schon angeführten Falle des Honigs dagegen kann ein positiver Befund an Honig nur Zeugnis ablegen für die Existenz desselben in der untersuchten Masse, ohne irgendwie das gleichzeitige Vorhandensein fremder Stoffe auszuschließen.

Unter diesen Voraussetzungen kann die Verwendung der bio-

1) von Riegler, G., Oesterr. Chem. Ztg. 1902. Heft 1.

2) Michaelis, E. und Oppenheimer, C., Arch. f. Anat. u. Physiol. 1902. Suppl.

logischen Methode auf dem Gebiete der Nahrungsmittellehre wirklichen Nutzen bringen; auch ist augenblicklich noch kein Grund vorhanden, zu sehr an der Spezifität der Präzipitine zu zweifeln, wengleich Kratter¹⁾ bereits begonnen hat, den Enthusiasmus zu dämpfen, mit dem man ihre künftige Verwendung im forensischen Lager begrüßte.

Als Endschluß kann somit die Tatsache festgestellt werden, daß man nach Behandlung mit Albumosen von Zuckererbsen, Linsen, Bohnen, Pferdebohnen und Wicke von Kaninchen für die entsprechenden Aufgüsse spezifische, präzipitierende Sera erhalten kann. Diese Spezifität ist quantitativ absolut, nicht aber qualitativ.

Will man für Wicke und andere Albumosen spezifische Sera erhalten, so muß die Behandlung einige Monate lang fortgesetzt werden, doch können die präzipitierenden Eigenschaften im Serum schon viel früher zu Tage treten. Das erhaltene Serum ist überdies spezifisch präzipitierend für die verschiedenen Sorten von Leguminosen, die mit den zur Behandlung des Serum liefernden Tiers gebrauchten verwandt sind.

Die Konservation dieser Sera ist sehr schwierig und in kurzer Zeit geht ihre Sensibilität verloren, was für die Praxis einer der größten Uebelstände ist. Ihre rationelle Applikation kann jedoch nicht allein die qualitative Diagnose einer Substanz gestatten, sondern auch mit ziemlicher Genauigkeit die Quantität dieser in dem zu prüfenden Material enthaltenen Substanz angeben.

Seit September habe ich es auch versucht, die Präzipitationsprobe auch zur Diagnose der Schwämme zu verwenden. Von vornherein war ein praktischer Erfolg wenig wahrscheinlich, da die große Zahl der existierenden Qualitäten den Gebrauch spezifischer Sera problematisch machte. Immerhin war es vom biologischen Standpunkte aus von Interesse, zu verifizieren, ob es einem gelang, bei der speziellen Konstitution der stickstoffhaltigen Substanzen der Schwämme präzipitierende Sera zu erhalten.

Da nun alle dabei erhaltenen Resultate negativ waren, so verzichte ich darauf, hier die sich auf die Experimente beziehenden Daten wiederzugeben. Summarisch genügt es jedenfalls, anzuführen, daß es nur mit großer Schwierigkeit gelingt, mit dem Serum der mit den verschiedensten, Schwämmen entzogenen Produkten behandelten Tieren einen Niederschlag zu erhalten, und daß, wenn man schließlich auch einen solchen erhält, diese Erscheinung doch nicht spezifisch ist. Aus diesem Grunde also scheint die Reaktion auf diesem Gebiete keine Verwendung finden zu können.

1) Kratter, D., Ueber die forensische Seradiagnose des Blutes. (Vers. d. Naturf. u. Aerzte. Sept. 1902. Ref. D. Zeitschr. f. Unters. v. Nahrungs- u. Genußmitteln. Dez. 1902.)

Ueber den Zusammenhang zwischen Pleospora- und Helminthosporium-Arten. II

Von H. Diedicke, Erfurt.

Im Bakteriologischen Centralblatt. Abt. II. 1902. No. 9 habe ich nachgewiesen, daß die Helminthosporien auf *Bromus asper*, *Br. inermis* und *Triticum repens* als Konidienformen zu Pleospora-Arten aus dem Formenkreis der *Pl. trichostoma* (Fr.) gehören. Um diesen Formenkreis noch mehr zu erweitern, achtete ich zunächst im Sommer vorigen Jahres auf das Auftreten von Helminthosporium auf anderen Gräsern und fand solche am 8. Juni (1902) auf *Festuca elatior* L. und am 13. Juni auf *Lolium perenne* L. Beide gehören der „Rost“-artigen Gruppe an (s. d. vor. Arb.); der betreffende Rasen wurde aber das ganze Jahr hindurch kurz gehalten, und es gelang mir nicht, im Herbst oder in diesem Frühjahr Sklerotien resp. Perithezien zu finden, die Untersuchung dieser Arten muß also auf spätere Zeit verschoben werden. Ferner bemühte ich mich, durch verschiedene Zuschriften angespornt, auch die Perithezien der Gerste bewohnenden Helminthosporien zu finden, und hatte das Glück, auf einem Stoppelfelde von Gerste, die im vorigen Sommer stark unter der Streifenkrankheit gelitten hatte, schon im Herbst 1902 und auch in diesem Frühjahr Sklerotien an den untersten Blattscheiden zu entdecken, wenn auch, ich will das gleich hier betonen, nur in ganz wenigen Exemplaren (im ganzen nur etwa 10 Stoppeln!). Endlich sandte mir auf meine Bitte Herr Lehrer W. Krieger-Königstein in liebenswürdiger Weise reichlich frisch gesammeltes Material von Pleospora trichostoma auf *Secale cereale*, wie er es in verschiedenen Exsiccaten-Werken ausgegeben hat, sowie eine Pleospora angeblich von *Triticum repens* mit frischen Blättern, welche Helminthosporium-Flecke aufwiesen. Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Herrn Kollegen Krieger auch hier meinen herzlichsten Dank zu wiederholen. Das zuletzt erwähnte Helminthosporium trat rostartig auf, also in der Weise, wie ich es in der vorigen Arbeit für die zweite, damals nicht untersuchte Form von *Triticum repens* beschrieben habe.

Mit diesem Material wurden nun im Mai und Juni d. J. Untersuchungen angestellt, deren Resultate im folgenden zusammengestellt sind.

I. Pleospora auf Gerste.

Das Feld, auf dem die Pleospora tragenden Stoppeln gesammelt wurden, liegt in der Aue bei Erfurt und war im vorigen Sommer stark von Helminthosporium gramineum Rabenh. (Streifenkrankheit) befallen. Im November 1902 fand ich einzelne Stoppeln auf den untersten Blattscheiden besetzt mit schwarzen, borstentragenden Knoten. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigte sich der sklerotiale Bau der Perithezien, in einigen waren Anfänge von Schläuchen zu bemerken, reife Sporen jedoch nicht. Die Borsten

trugen keine Konidien, ein Punkt, auf den ich unten noch zu sprechen komme. Die mit Perithezien besetzten Stoppeln waren ziemlich selten; sie wurden in ein Leinwandsäckchen genäht und sollten mit anderen Sachen zusammen im Freien überwintert werden. Durch ein Versehen kam aber gerade dieses Säckchen nicht mit hinaus und blieb so in einem Zimmer aufbewahrt, das nur einige Male während des Winters geheizt wurde und an einigen kalten Tagen mehrere Grad Kälte zeigte.

Dieses Material wurde nun am 3. Mai einer Prüfung unterzogen, wobei gar keine Schläuche gefunden wurden (da ich wenig Material hatte, durften nur wenige Perithezien untersucht werden). Dann kamen die Stücke in eine feuchte Schale. Schon am 6. Mai zeigten sich auf mehreren Perithezien Konidien von *Helminthosporium*, aber keine Schläuche; in anderen Perithezien waren Schläuche, aber auf ihnen kein *Helminthosporium*. Dies Verhältnis blieb auch später bestehen: Es waren entweder in den Perithezien Schläuche mit vollständig ausgebildeten Sporen vorhanden, oder aber nur *Helminthosporium* auf den Knoten, die keine Schläuche enthielten. Erst gegen das Ende der Versuchsreihe begannen auch diejenigen Perithezien, welche Schläuche ausgebildet hatten, einige Hyphen mit Konidien hervorzubringen, so daß an der Identität der beiden verschiedenartig sich verhaltenden Perithezien nicht zu zweifeln ist.

Die Entstehung dieser Konidien erinnert mich wieder an die Angaben Fuckels von *Pleospora relicina* in Rabenhorsts Kryptogamenflora. Danach sollen die Borsten konidientragend sein. Das ist nicht ganz wörtlich zu nehmen, wie ich mich durch vielfache Untersuchung genau überzeugt habe. Die Perithezien sind von Anfang an mit Borsten bedeckt, welche den Winter überdauern, aber auch im Frühjahr sich neu bilden können. Diese Borsten sind schlank, rußfarbig, nach der Spitze zu allmählich dünner und heller werdend. Sie werden aber im Laufe des Winters durchweg hart und undurchsichtig, so daß sie bis zur Spitze gleichmäßig gefärbt sind. Diese Borsten nun tragen nie Konidien; aber zwischen ihnen bilden sich im Frühling bei feuchter Lagerung neue Hyphen, auch borstenartig und braun gefärbt, aber schon von Anfang an von den ersteren leicht zu unterscheiden durch größere Dicke und durch ihr Wachstum. Sie sind nicht gerade und nach der Spitze zu an Stärke abnehmend, sondern wachsen gleich vom Grunde an etwas hin- und hergebogen, besonders nach der Spitze zu; sie bleiben überall gleichmäßig dick. An der Spitze schnüren sie eine Konidie ab, die Spitze wächst dann seitlich weiter und so entsteht nach und nach der typische Konidienträger des *Helminthosporium*, wie ihn Raven (Zeitsch. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. 1901. p. 11 u. 12) beschrieben und gezeichnet hat.

In einigen Perithezien, auf denen sich gar keine oder nur sehr wenige Konidien bildeten, entstanden Schläuche, deren reife Sporen am 15. Mai untersucht wurden. Die Schläuche sind, wie bei den im Vorjahre untersuchten *Pleospora*-Arten, sackartig, teilweise etwas länger und auch länger gestielt, sie zeigten auch

die verdünnten Stellen an der Spitze, welche die Veranlassung zur Entleerung der Asci geben. Die zwei seitlichen von ihnen sind übrigens nicht einzelne punktartige Stellen, sondern gehören zu einem ringsum gehenden Ring, oder besser gesagt einer Falte in der stärker verdickten Membran, welche dieselbe wulstartig umgibt. In den Schläuchen sind selten 8, gewöhnlich weniger Sporen entwickelt, die der Gestalt und Größe nach denen der übrigen Formen völlig gleichen: Sie sind von einer Gallerthülle umgeben und haben 3 Querwände, die 2. oder auch noch die 3. Zelle sind breiter und durch eine Längswand nochmals geteilt. Es kamen nun gerade bei dieser Art öfter deformierte Spore vor: Es ist noch eine Querwand eingeschoben, die Zellen sind mehr gestreckt und die ganze Spore wird dadurch länger und erhält ein fremdartiges Aussehen. Sämtliche, auch die regelmäßig ausgebildeten, sind ferner äußerst dünnwandig, und wenn ich diesen Umstand auch schon von den früher untersuchten Arten erwähnt habe, so muß ich hier noch besonders hervorheben, daß die Wände zu dünn waren, um dem Druck der aufquellenden Schlauchwand zu widerstehen. Sowie letztere anfang zu quellen, wurden die Sporen einfach zerquetscht, aber nicht aus dem Schlauche herausgedrückt. Kulturversuche konnten also mit diesem Material nicht gemacht werden.

Am 29. April 1903 sammelte ich noch einmal einige Stoppeln mit Perithezien auf demselben Felde. Diese besaßen nach mikroskopischer Untersuchung keine Spur von Schläuchen oder Sporen, waren aber noch kompakt, also nicht entleert. Auch nach längerem Feuchtliegen bildeten sich keine Asci, dafür bedeckten sich die Sklerotien mit zahlreichen Konidienträgern zwischen den Borsten, und schon am 5. Mai war reichlich *Helminthosporium* zu finden.

Um zu prüfen, ob aus diesen Perithezien resp. Sklerotien sich wieder die Streifenkrankheit entwickelt, wurden einige Kulturen angelegt: Auf die Blätter junger Pflanzen von *Hordeum hexastichon erectum* wurden am 15. Mai Teile von Perithezien gebracht. Von 16 so infizierten Pflanzen erkrankten 6, indem die um die Infektionsstelle liegenden Partien vergilbten und braune Streifen bekamen, während Kontrollpflanzen gesund blieben. Die Streifenkrankheit kann also auch durch die Sklerotien resp. Perithezien im neuen Frühjahr auf die Gerste übertragen werden. Praktische Bedeutung für die Landwirtschaft würde dies aber kaum haben, nämlich nur dann, wenn mehrere Jahre hintereinander auf demselben Felde Gerste gebaut würde, und wenn außerdem die Bildung von Perithezien nicht verhältnismäßig so selten wäre.

Die hier geschilderten Verhältnisse zu verallgemeinern, erscheint mir aber voreilig und gewagt. Es kann dies erst nach mehrfachen eingehenden Untersuchungen geschehen, und ich werde bemüht sein, diese vorzunehmen, sobald ich reichlicheres Material der betr. Pilze erlangen kann. Ich wende mich daher auch an die geehrten Leser dieser Zeitschrift, welche für die Frage Interesse haben, mit der ergebensten Bitte, mir Unterstützung zuteil werden

zu lassen durch gefl. Uebersendung von im Herbst gesammelten Stoppeln, welche borstentragende Sklerotien tragen. (Adr. Mittelschullehrer H. D. Erfurt, Blumenstr. 90.) Es müßte dabei bestimmt bemerkt werden, ob die betr. Gerste an Streifenkrankheit oder Fleckenkrankheit gelitten hatte.

II. Pleospora auf Roggen.

Das Material, welches ich von Herrn W. Krieger am 26. April empfing, enthielt neben *Pleospora trichostoma* noch einige andere Pilze, die natürlich für die Untersuchung nicht in Frage kommen können: *Pl. herbarum* (Pers.) und eine *Leptosphaeria*.

In den mit Borsten besetzten Perithezien von *Pl. trichostoma* waren die Sporen schön entwickelt und in Gestalt und Größe den übrigen Formen fast gleich, nur im Verhältnis zur Länge etwas breiter, im Durchschnitt $57:26\ \mu$ groß. Von dem Material wurden zunächst einige Stoppeln in eine Schale mit feuchtem Fließpapier gelegt und am 5. Mai untersucht. Die Borsten sind auch hier nicht konidientragend. Auf einigen (4) Perithezien bildeten sich auch hier auf neu entstandenen Trägern Konidien von *Helminthosporium*. Diese Perithezien waren aber schon vorher mit der Lupe deutlich von allen übrigen zu unterscheiden; sie waren kleiner und flacher als diese und überzogen sich, wie am 5. und 6. Mai zu beobachten war, mit dem olivengrünen Anflug, welcher den *Helminthosporium*-Rasen eigen ist. Die Konidien waren nicht regelmäßig ausgebildet, hatten dünnere Wände und zeigten an den Querwänden nach dem Trockenwerden nicht die eigentümlichen, für die *Helminthosporien* der Gräser so charakteristischen Verdickungen. Sie wuchsen auch eigentümlich weiter, indem an ihren Enden sich eiförmige bis kugelige Zellen abschnürten, fast den Eindruck von hefeartiger Sprossung verursachend. Asci enthielten die 4 konidientragenden Perithezien nicht, und sie waren auch im Verlauf der ganzen Versuchsreihe die einzigen, welche *Helminthosporien* hervorbrachten. Sie sind wahrscheinlich (ich schließe das aus dem ganz vereinzelt Vorkommen und aus der Deformation der Konidien) durch Infektion von einem benachbarten Gerstenfelde aus, oder von *Triticum repens*, auf die *Secale*-Stoppeln gelangt und gehören sicher nicht zu dem eigentlichen Material der *Pl. trichostoma*, bei dessen Kultur nie *Helminthosporium* auftrat.

Von dem übrigen Material blieben nun einige Stücke in feuchter Schale liegen, von anderen Perithezien wurden am 30. April Reinkulturen in Pflaumendekoktgelatine in Petri-Schalen angelegt. Auf dem Stroh bildeten sich bald dichte Ueberzüge von *Alternaria* und auch in den Reinkulturen entstand kein *Helminthosporium*, sondern, wie mehrfache genaue Untersuchung, zuletzt am 9. Mai, ergab, *Alternaria*. Am 6. Mai wurden nochmals Reinkulturen in Tropfen derselben Nährlösung auf sterilisierten Deckgläschen angelegt. Es bildete sich bald im Tropfen, sowie außerhalb auf dem Glase und in der Luft wachsend, Mycel, dessen Fäden wenig

hin und hergebogen waren. Auch Mycelverwachsungen waren an den auf Glas außerhalb des Tropfens wachsenden Teilen vereinzelt anzutreffen; sie ähnelten den von mir bei *Pleospora* auf *Triticum repens* beschriebenen (s. d. vor. Arbeit). Die später entstehenden Konidien waren wieder von der Form der *Alternaria*, niemals zeigte sich auch nur die Spur von *Helminthosporium* bis zum 20. Mai, wo die Kulturen ausgetan wurden.

Auch die Infektion von Gerste ergab keinen Erfolg. Der bis jetzt als *Pleospora trichostoma* (Fr.) Wint. auf *Secale* in den Exsikkatenwerken herausgegebene Pilz steht also nicht mit einem *Helminthosporium*, sondern mit einer *Alternaria* in Zusammenhang. Diese *Alternaria* würde, der Benennung der *Helminthosporien* parallel, als *Alternaria trichostoma* Diedicke zu benennen sein. Sie findet sich übrigens auch im Freien auf den untersten vergilbten Blättern von *Secale*; ich habe solche am 18. Juni 1902, sowie am 8. Mai d. J. gefunden.

Aus diesem Verhalten der *Pleospora* von *Secale* schließe ich wohl nicht mit Unrecht, daß die von mir im Vorjahre beschriebenen *Pleospora*-Species von *Bromus* und *Triticum repens*, sowie die jetzt untersuchte Art von *Hordeum* nicht als Formen von *Pl. trichostoma* (Fr.) in dem Sinne, wie letzterer Pilz von verschiedenen Sammlern aufgefaßt worden ist, anzusehen sind. Wie mir Herr Medizinalrat Dr. Rehm im vorigen Jahre gütigst mitteilte, ist *Pl. trichostoma* auf *Secale* in den folgenden Exsikkatenwerken ausgegeben worden: Rehm, *Ascomyceten* 592; Fuckel, f. rhen. 906; Rabenhorst, f. europ. 535; Krieger, f. sax. 282; Sydow, myc. march. 98. Diese würden auch ferner denselben Namen zu behalten haben; als *Pl. trichostoma* (Fr.) Wint. sind also diejenigen Pilze zu bezeichnen, die als Konidien *Alternaria* erzeugen. Für die übrigen Exsikkaten sowie für die von mir beschriebenen Spezies, also für diejenigen Pilze dieser Gruppe, deren Konidien *Helminthosporium*-artig sind, ist die Nomenklatur zu ändern, und ich bezeichne sie in Uebereinstimmung mit K. Ravn (in litt.) mit folgenden Namen:

Perithezien:		Konidien:	
(?) <i>Pleospora</i>	<i>teres</i> Died.	<i>Helminthosporium</i>	<i>teres</i> Sacc.
(?) „	<i>Avenae</i> Died.	„	<i>Avenae</i> Br. et Cav.
„	<i>Bromi</i> Died.	„	<i>Bromi</i> Died.
„	<i>graminea</i> Died.	„	<i>gramineum</i> Rabenh.
„	<i>Tritici repentis</i> Died.	„	<i>Tritici repentis</i> Died.

wobei die 3 ersten Species der „Rost“-artig, die 2 letzteren der „Brand“-artig auftretenden Gruppe zuzuweisen sind.

Mir selbst ist die Notwendigkeit, die erst im vorigen Jahre von mir aufgestellten Namen jetzt schon ändern zu müssen, selbstverständlich nichts weniger als angenehm: der ganzen Sachlage nach erscheint mir aber der jetzt eingeschlagene Weg der richtige zu sein; es wird auf diese Weise zugleich ein anderer Irrtum meinerseits berichtet. Ich hatte nämlich den Namen *Helminthosporium gramineum* Rabenh. als Sammelnamen für sämtliche Konidienformen gewählt. Das ist aber deshalb nicht angängig,

weil die Rabenhorstschen Original Exemplare, wie mir Herr K. Ravn-Kopenhagen freundlichst mitteilte, nur von der Streifenkrankheit befallene Gerstenblätter enthalten, nicht aber auch andere Helminthosporiosen.

Die Perithezien von *Pleospora Avenae* Br. et Cav. und von *Pl. teres* Sacc. müssen noch gesucht werden, ebenso das *Helminthosporium* auf *Calamagrostis montana* (Rehm, Askomyceten 180). Zopf und Sydow, Myc. march. 62 (sub. *Pl. phaeocomes*) dürfte zu *Pl. Tritici repentis* gehören; die Bezeichnung der übrigen Exsikkaten: „Unbestimmte Grasblätter“ (Rehm, Askom. 786), „on grass“ (Plowright, Sphaer. brit. III, 86, 87), „on straw“ (Cooke, f. brit. II, 692) sind zu unbestimmt, als daß man die betreffenden Pilze einer Species zuweisen könnte. Ueberhaupt müßten sich Sammler dieser Arten, nachdem der Zusammenhang derselben mit Helminthosporien erwiesen ist, zur Pflicht machen, von denselben Nährpflanzen auch frische Blätter im Frühling mit einzulegen, auf denen die durch *Helminthosporium* verursachten Flecke sichtbar sind. Das ist zur genauen Bestimmung der Pilze unerläßlich, wie die folgende Untersuchung der zweiten Form von *Triticum repens* deutlich beweist.

III. *Pleospora*, angeblich auf *Triticum repens*.

Schon im November 1902, nachdem ich Herrn Lehrer W. Krieger-Königstein gebeten hatte, mir frisches Material von *Pl. trichostoma* zur Untersuchung zu senden, teilte mir derselbe mit, daß er auf der Quecke eine Form gefunden habe, „der die starke Behaarung fehlt“. Am 8. Mai d. J. erhielt ich nun von ihm reichliches Material dieses Pilzes, und es war mir sehr interessant, zugleich einige frische Blätter mit zu erhalten, welche *Helminthosporium*-artige Flecke aufwiesen. Diese Flecke waren nämlich denjenigen entsprechend, welche für die „Rost“-artig auftretenden Helminthosporien charakteristisch sind. Nach meiner Meinung hatte ich also Material der von mir im Vorjahre nicht untersuchten zweiten Form von *Triticum repens* erhalten und benutzte dieses zu Kulturen und Infektionsversuchen, um auch die Stellung dieses Pilzes zu klären.

Die gesandten Grasblätter enthielten in den massenhaft auf ihnen vorhandenen Perithezien reichlich und gut entwickelte Schläuche und Sporen. Letztere stimmen mit den früher beschriebenen der Gestalt nach vollständig überein, sie sind ebensogroß oder noch etwas größer als die von *Pl. Bromi*, im Durchschnitt $62 : 24 \mu$, die Schleimhülle ist bei den meisten gut ausgeprägt. Schon nach einigen Tagen bildeten sich auf feucht aufbewahrten Grasblättern die Konidien von *Helminthosporium*, und es wurden nun, um den Entwicklungsgang des Pilzes kennen zu lernen, Tropenkulturen angelegt. Am 17. Mai kamen reife Sporen und Schläuche in Tropfen von Pflaumendekoktgelatine auf sterilisierte Deckgläschen. Am 20. Mai schon konnte das typische Mycel von *Helminthosporium* mit seinen wollig hin und hergebogenen Hyphen beobachtet werden, vom 22. Mai an bedeckten sich die Kulturen mit den Konidien. Die am Rande entstandenen Mycelverwachsungen

waren vereinzelt und glichen denen von Pl. Bromi, wie ich sie im Vorjahre beschrieben habe.

Da die im Freien beobachteten Flecke auf den jungen Blättern auf ein rostartiges Auftreten schließen ließen, mußte nachgeprüft werden, ob der Pilz vielleicht mit Pl. teres oder mit Pl. Bromi identisch sei, und es wurden zu diesem Zwecke folgende Infektionsversuche angestellt:

1) Von *Hordeum distichum nutans* wurden am 29. Mai 25 Pflänzchen geimpft. Bis zum 15. Juni war kein Erfolg eingetreten; der Pilz gehört also nicht zu Pl. teres.

2) Von *Bromus asper* wurden am 8. Juni 6, am 16. Juni noch 8 Pflänzchen geimpft. Resultat: Am 16. Juni waren die ersten 6 Pflanzen sämtlich, am 27. Juni von der zweiten Gruppe 4 erkrankt, im ganzen also von 14 Pflanzen 10! Alle zeigten die typischen braunen Flecke, auf denen bei den untersuchten Exemplaren die Konidien von *Helminthosporium* entwickelt waren. Kontrollpflanzen blieben gesund.

Dies Ergebnis war für mich eine große Ueberraschung. Im Vorjahre war es mir trotz sehr vieler Impfungen (66) nicht ein einziges Mal gelungen, die Pl. Bromi auf *Triticum repens* zu übertragen und nun sollte der umgekehrte Versuch so reichen Erfolg haben? Zur Nachprüfung wurden nun auch junge Pflanzen von *Triticum repens*, die ich bis jetzt völlig außer acht gelassen hatte, am 16. Juni geimpft. Von 24 Exemplaren zeigte bis zum 23. Juni kein einziges auch nur eine Spur von braunen Flecken, ebensowenig am 27. Juni. An letzterem Tage wurden nochmals 10 frische Pflänzchen mit gut entwickelten Schläuchen geimpft. Den Erfolg derselben abzuwarten — bis zum 30. Juni war kein solcher eingetreten — halte ich für überflüssig, nachdem ich auf eine neue Anfrage noch einmal frisches Material von Königstein erhalten habe; es waren lauter ährenlose Stengel, die stark vom Pilze befallen waren und auf den unteren trocknen Blättern schon wieder Perithezien trugen. Dabei lag ein ährentragender Halm, aber von einem anderen Standort und nicht mit *Helminthosporium* besetzt; der letzere war *Triticum repens*. Trotzdem mir nun Herr Krieger die beiden Gräser auch jetzt wieder ausdrücklich als derselben Art angehörig bezeichnete, untersuchte ich sie mikroskopisch, und da stellte sich, besonders durch die Beobachtung des Blattrandes, bald heraus, daß die Gräser voneinander verschieden waren. Durch Vergleich mit hiesigem frischen Material ließ sich nun leicht feststellen, daß das befallene Gras *Bromus inermis* ist. Wenn man *Bromus inermis* und *Triticum repens* bei und durcheinander wachsen sieht, wie es sehr häufig der Fall sein mag und wie ich erst kürzlich Gelegenheit hatte zu beobachten, so sind wirklich ihre Blätter, wenn man von den Ähren absieht, makroskopisch nicht voneinander zu unterscheiden.

Durch diesen Irrtum des Herrn Krieger aufmerksam geworden, untersuchte ich nun auch aus meinem vorjährigen Material die Blätter, nach denen ich die zweite Form des *Helminthosporium* auf *Triticum repens* beschrieben hatte, und siehe da: Ich hatte im vorigen Jahre denselben Fehler gemacht, auch

diese Blätter gehören zu *Bromus inermis*! In der Arbeit in dieser Zeitschrift. 1902. Heft 9. p. 320 ist also der Abschnitt über diese Form zu streichen.

Der ganze Verlauf der Untersuchung dieses letzten Pilzes ist zunächst eine eklatante Bestätigung der Richtigkeit meiner vorjährigen Untersuchungen; konnte doch sogar mit Hilfe der Pilzkulturen die falsche Bestimmung des Substrates rektifiziert werden. Er enthält aber auch eine für jeden Sammler beherzigenswerte Lehre: Man sammle nie Gräser oder auf Gräsern wachsende Pilze, ohne Ähren resp. Rispen der betr. Gräser mitzusammeln!

Nachdruck verboten.

Die Wachstumserscheinungen von *Bacterium Zopfii* auf Peptongelatine.

[Aus dem gärungs-physiologischen Laboratorium der Versuchstation für Brauindustrie in Wien. Vorsteher: Dr. Heinrich Wichmann.]

Von Dr. Heinrich Zikes.

Boyce und Evans¹⁾ haben in einer im Jahre 1893 unter dem Titel „Upon the action of gravity on *Bacterium Zopfii*“ erschienenen Arbeit auf das merkwürdige Wachstum von *Bact. Zopfii* auf Peptongelatine in senkrecht stehenden Eprouvetten aufmerksam gemacht und die Ursache desselben als negativen Geotropismus bezeichnet. Sie beobachteten, daß *Bact. Zopfii* in Peptongelatine am Stich federähnliche Fasern sowohl an der Oberfläche wie in der Tiefe dieses Nährbodens bildet, die zumeist in einem Winkel von 45° vom Stiche nach aufwärts ausstrahlen, wenn die Röhrchen vertikal gehalten wurden, und daß symmetrische federartige Bildungen nicht entstehen, wenn die Röhrchen horizontal lagen.

M. W. Beijerinck²⁾ griff bald darauf dieselbe Frage auf und erklärte das eigentümliche Verhalten von *Bact. Zopfii* auf Peptongelatine mit einer außerordentlich großen Empfindlichkeit dieses Organismus für Wärmedifferenzen. Die federartigen Strahlen seien genau auf diejenigen Stellen der Gelatine gerichtet, welche am wärmsten sind.

Da in der Literatur keine weiteren Enunciationen zu finden waren, welche die eine oder andere dieser divergierenden Ansichten bestätigten, wendete ich mich diesen überaus interessanten Erscheinungen zu und teile in folgendem meine Versuche objektiv mit:

Um einerseits die Frage zu lösen, ob die Wachstumserscheinungen durch die Attraktion der Schwere beeinflußt werden können, wurden folgende Versuche angestellt:

1) Es wurden 6 Eprouvetten mit Stichkulturen senkrecht aufgestellt, von welchen 3 umgekehrt worden waren, so daß die Öffnung derselben nach unten kam.

1) Communication made to the Royal Society. Februar 1893.

2) Centralblatt für Bakteriologie. Bd. XV. p. 799.

In allen 6 Eprouvetten wuchsen die makroskopisch sichtbaren Hauptzweige der Kultur in einem ungefähren Winkel von 45° von der Strichlinie nach aufwärts, gleichgültig, ob sich die Oeffnung der Eprouvette oben oder unten befand. Horizontal liegende Eprouvetten ließen Strichkulturen nur mit wirr durcheinander wachsenden Seitenfäden entstehen und war von einer regelmäßigen Anordnung keine Rede. Bei genauer Betrachtung erschien es jedoch, als ob in jenen Eprouvetten, deren Oeffnungen sich nach unten zu befanden, die Seitenzweige der Kultur etwas weniger steil nach aufwärts wüchsen, was durch chemotaktische Beeinflussung in dem Sinne zu erklären wäre, daß der Organismus seine geotropische Wachstumsrichtung zu Gunsten seines Sauerstoffbedürfnisses geändert hätte. Daß *Bacterium Zopfii* sich sehr sauerstoffbegierig verhält, ist am besten zu ersehen, wenn man eine ausgewachsene Strichkultur auf Gelatine in senkrechter Stellung mit neuer Gelatine bis zu einem beliebigen Punkte des Striches überschichtet. Es wird von keiner Stelle derselben ein Hineinwachsen in die neue Gelatine stattfinden, bis auf die obersten Teile des Striches, welche gerade noch von der neuen Gelatine bedeckt sind.

2) Es wurde eine Strichkultur an ein sich in der Vertikalebene drehendes Rad befestigt, welches innerhalb 2 Sekunden eine Umdrehung machte. Nach Vollendung der Beobachtungszeit erwiesen sich die Seitenzweige der Kultur nicht orientiert und wuchsen wie bei den horizontal liegenden Eprouvetten unregelmäßig durcheinander.

3) Es wurden auf Peptongelatine in zwei Petri-Schalen Strichkulturen von *Bact. Zopfii* angelegt und dieselben so plazierte, daß in der einen Schale der Strich vertikal, in der anderen horizontal auf der vertikal gestellten Oberfläche der Gelatine zu liegen kam. Vom Vertikalstrich hatten 15 Hauptästchen die Tendenz, nach aufwärts und nur drei nach abwärts zu wachsen. Am Horizontalstrich war die Entwicklung von 7 Hauptzweigen mit dichter und reichlicher Verzweigung nach aufwärts und nur von 1 Hauptansatz mit verkümmertem Wachstum nach abwärts zu beobachten.

Um auch die von Beijerinck aufgestellte Behauptung zu überprüfen, wurden

1) in eine aus Pappendeckel verfertigte Schachtel von rechteckiger Form in die beiden Wände der Schmalseiten 2 Oeffnungen geschnitten, welche der Form und Größe zweier Eprouvetten entsprachen. Diese wurden in der Weise eingepaßt, daß der Strich der Kultur genau in der Ebene der Pappendeckelwand zu liegen kam. Im Innern der Schachtel befand sich ein mit Eis gefülltes Gefäß, dessen Inhalt nach Bedarf erneuert wurde. Obwohl hierdurch die Temperatur im Innenraum stets um $5-6^\circ$ niedriger war als die der Außenluft, wuchs das Bakterium nach innen wie nach außen in gleich kräftiger Weise, obwohl nach Beijerincks Angaben zu erwarten gewesen wäre, daß das Wachstum auf der wärmeren Seite der Kultur stärker einsetze und kräftiger vor sich gehe als auf der abgekühlten Seite.

2) Es wurde in einer längeren Eprouvette eine Strichkultur von *Bact. Zopfii* angelegt und dieselbe im oberen Teile durch Wasserspülung ständig um 6° kühler gehalten als im unteren Teile.

Es zeigte sich auch hier in der regelmäßigen Anordnung sowie in der Mächtigkeit der Seitenzweige kein Unterschied längs der ganzen Kultur, obwohl doch an der untersten Stelle des gekühlten Teiles eine Ablenkung der Seitenstrahlen in die wärmere Gelatine hätte erfolgen müssen; daß tatsächlich bei den sub 1 und 2 angeführten Fällen auch im Innern der Eprouvette größere Temperaturdifferenzen herrschten, ergab sich aus dem Beschlagen der Eprouvettenwand mit Kondenswassertropfen im kälteren Teile.

Auch läßt sich 3) das Wachsen vom *Bacterium Zopfii* in Strichkulturen auf horizontal liegenden Platten nicht in Einklang mit Beijerincks Annahme bringen, da es hier oft zu 2, 3, 4 und mehr Wachstumszentren kommt, die auf den einzelnen Platten bei gleicher Größe derselben und an dem gleichen Orte in Thermostaten beobachtet, ganz verschiedene Positionen einnehmen.

Nach allen diesen Versuchen erscheint mir die von Boyce und Evans ausgesprochene Ansicht, daß *Bact. Zopfii* in seinem Wachstum auf senkrecht gestellten Gelatinekulturen den Gesetzen der Attraktion der Schwere im negativen Sinne entspricht, die richtige zu sein und die auf diesem Gesetze basierende Entwicklung der Kulturen nur durch das starke Sauerstoffbedürfnis dieses Mikroben beeinflusst werden zu können.

Ich habe meine Beobachtungen aber auch auf den Einfluß der Zentrifugalkraft ausgedehnt, welchem *Bact. Zopfii* eventuell unterliegen kann, und gefunden, daß auch diese Kraft eine Alteration in der Wachstumsrichtung der Seitenzweige dieses Bakteriums hervorbringt.

Zu diesem Zwecke wurden Eprouvetten auf die Achse einer Wasserzentrifuge in dem Sinne eingesetzt, daß der Strich der Kultur gerade in die Verlängerung dieser Achse zu liegen kam. Es zeigte sich hierbei, daß bei einigermaßen stärkerer Rotation (5—6 Umdrehungen in der Sekunde) der typische Winkel von 45° , welchen die Seitenfäden mit der Strichlinie bilden, auf 75° , bei noch größerer Rotationszahl selbst auf nahezu 90° erweitert werden kann.

Zugleich konnte die Beobachtung gemacht werden, daß die Länge der Seitenzweige der zentrifugierten Kultur stets erheblicher war als an gleich alten in Ruhe befindlichen Kulturen.

Dieselbe Erscheinung trat übrigens auch bei *Bacillus mycoides* zu Tage, dessen Kultur ich derselben Prozedur unterzog.

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Landwirtschaftliche Versuchsstation Münster i. W.

König, J. und Spleckermann, A. Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. II. Das Fadenziehendwerden des Brotes. Ausgeführt von J. Tillmanns. (Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- und Genußmittel. Bd. V. 1902. p. 738—763.)

Die Arbeit enthält Untersuchungen über das morphologische und physiologische Verhalten zweier in fadenziehendem Brot gefundenen Bakterienarten, über die chemischen Veränderungen in fadenziehendem Brot, über die Art der Entstehung und die chemische Natur des fadenziehenden Stoffes.

1) Eigenschaften der Bakterien: Die aus drei Proben fadenziehenden Brotes gezüchteten zwei Bakterienarten zeigten in vieler Beziehung ähnliches Verhalten, besaßen aber auch eine Anzahl auch bei langdauernder Beobachtung konstanter abweichender Eigenschaften. Mit den bisher beschriebenen Bakterien des fadenziehenden Brotes sind sie anscheinend nicht identisch.

a) Morphologisches Verhalten der Bakterien. Der Entwicklungsgang wurde an Sporenmaterial aus 4-wöchigen Agarkulturen bei 28° in 3—4 ccm einer Nährlösung in einem Reagenzglas verfolgt. Die Nährlösung bestand aus: Liebig's Fleischextrakt 1,0, Pepton Witte 1,0, Saccharose 0,5, Laktose 0,5, Seignettesalz 0,1, Wasser 120. Das Aussaatmaterial wurde durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 75—80° von allen vegetativen Formen befreit. Bei der kurz als *Bacillus II* bezeichneten Art wurde folgendes beobachtet. Sporen elliptisch, Membran glatt, $1-1,5 \mu : 0,5-0,7 \mu$. Keimung beginnt nach 4—6 Stunden ohne merkliche Aufquellung der Spore. Das Keimstäbchen tritt in selteneren Fällen in der Mitte der Sporenlängswand mit einem Ende gerade hervor. Meist wächst es in der Spore in die Länge und tritt gekrümmt in der Mitte der Längswand hervor, während die beiden Enden noch längere Zeit in der gebogenen Sporenhülle sitzen bleiben. Zuweilen reißt die Sporenhaut äquatorial völlig auseinander, so daß dann jedem Ende des Keimstäbchens die Hälfte der Sporenhaut aufsitzt. Keimstäbchen schwärmen nicht. In den ersten Stunden nur ein- und zweizellige Stäbchen und Verbände aus 2 ein- oder zweizelligen Stäbchen. Nach 6 Stunden erste Schwärmer, teils als einzelne Stäbchen teils in Verbänden von 2 und 4 Stäbchen. Nach 24 Stunden zeigten sich einzelne sehr lange Zellfäden (150μ) teils ohne Septen, teils ganz in Zellen aufgeteilt, deren Zahl im Laufe des zweiten Tages zunahm. Nach 3 Tagen Bildung einer Oberflächenhaut, Flüssigkeit klar. Haut bestand aus völlig aufgeteilten Fäden. Sporangienbildung nach 8 Tagen, $1,8-2,1 : 0,7$. Spore etwas nach dem einen Ende hin verschoben.

Die Entwicklung der zweiten Art, *Bacillus I*, verlief ganz analog. Schwärmer traten erst 12 Stunden nach der Aussaat auf, Sporangien nach 3—4 Tagen.

Begeißelung beider Arten peritrich. Geißeln sehr zahlreich. Bei Züchtung auf Möhren wachsen beide Arten in schleimigen Zoogloen. Im Präparat kann man die sich mit Färbstoffbeizen gut färbende Zwischensubstanz zwischen den Zellen erkennen. Dagegen ließ sich eine schärfer begrenzte Hülle um die Bakterien nicht nachweisen.

b) Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

Beide Arten verflüssigen Gelatine, *Bac. II* etwas langsamer als *Bac. I*. In Stichkulturen erzeugen beide Arten auf der Oberfläche

eine schleimige Haut, die bei Bac. II stets 2—3 Tage später auftritt als bei Bac. I. Auf Agar bildet bei 28° Bac. I eine trockene graue, faltige, fest zusammenhängende Haut, Bac. II einen grauen schleimigen Belag. Der Agar färbt sich allmählich tiefbraun. Bei 18° bildet Bac. I eine anfangs schleimige, dann lederartig zäh werdende Haut, Bac. II eine stets schleimig bleibende Haut. Auf Möhren wachsen beide Arten in dicken Schleimmassen, welche allmählich in faltige trockene Häute übergehen, auf Kartoffeln in grauen gekröseartigen Ueberzügen. Milch wird von beiden Arten schnell koaguliert, das Kasein wieder peptonisiert. In verschiedenen Nährlösungen zeigten beide Arten untereinander und auch von Bac. panis viscosus I und Bac. mesentericus vulgatus abweichendes Wachstum. Viskosität trat in geringem Grade nur in alten Kulturen in asparaginhaltigen Lösungen auf. Sonst bildete sich nur eine visköse Oberflächenhaut.

Bei einem Gehalt der Nährlösungen von 0,2 Proz. Milch- oder Essigsäure stellten die Bakterien das Wachstum ein.

2) Die chemischen Veränderungen in fadenziehendem Brot. Für diese Untersuchungen wurden Brote benutzt, welche aus mit größeren Sporen Mengen der beiden Bakterienarten und von *Bacillus panis viscosus* I Vogel versetztem Roggen- und Weizenmehl gebacken waren. Als Impfmateriale dienten die Bakterienrasen von 5-tägigen Kartoffelkulturen, welche getrocknet, gepulvert und so dem zum Backen verwendeten Wasser zugesetzt wurden. Die Brote blieben 2—4 Wochen bei 20° liegen. Die Zersetzung verlief bei allen Arten in derselben Weise. Die Stärke wurde stark dextriniert und verzuckert, Fett und Rohfaser nicht oder nur in geringem Grade verändert. Die Stickstoffbildungen erfuhren eine starke Zersetzung, welche bei längerem Liegen bis zu Ammoniak ging. Die löslichen Stickstoffverbindungen wurden erheblich vermehrt. Es traten Albumosen, Peptone und Amidverbindungen auf. Die analytischen Angaben müssen im Original eingesehen werden,

3) Die chemischen Veränderungen der Stärke und des Klebers. Sterilisierter 30-proz. Stärkekleister mit 2 Proz. Pepton und Nährsalzen und sterilisierter Kleber wurden mit den Bakterien des fadenziehenden Brotes geimpft. Die Versuche sollten einen Aufschluß darüber geben, ob bei der Zersetzung von Stärke und Kleber schleimige Stoffe gebildet wurden. Die Stärke wurde in der schon beim Brot festgestellten Weise, in Zucker und Dextrine gespalten. Dextran- oder galaktanartige Stoffe entstanden dabei nicht. Der Kleber wurde zu Peptonen, Basen, Amiden und Ammoniak zerlegt.

Die Bildung schleimiger Stoffe wurde weder bei der Zersetzung der Stärke noch des Klebers beobachtet. Dagegen hatte sich auf der Oberfläche der stark zersetzten Stärke eine dicke, fadenziehende Bakterienhaut gebildet. Diese Erscheinung spricht im Verein mit den oben erwähnten Beobachtungen über das Wachstum der Bakterien auf verschiedenen Nährböden dafür, daß es sich bei dem fadenziehenden Stoffe fadenziehenden Brotes nicht um Zersetzungs-erzeugnisse der Stärke oder des Klebers, sondern um eine Schleim-

absonderung der Bakterien handelt, sei es, daß sie durch Aufquellung der äußeren Zellhautschichten oder durch Ausscheidung gummiartiger Stoffe entstehe.

4) Die chemische Natur des fadenziehenden Körpers. Versuche, die fadenziehenden Stoffe aus viskösen Nährlösungen oder aus Brot zu gewinnen, gelangen nicht. Es wurden daher die Schleimmassen untersucht, welche *Bacillus I* auf sterilisierten Möhrenscheiben in großen Mengen erzeugt. Der Schleim ließ sich völlig rein leicht von den Möhrenscheiben mit einem Spatel entfernen. Die nach 2—3-tägigem Wachstum untersuchten Schleimmassen lösten sich zum Teil in Wasser und in 50-proz. Spiritus. Durch absoluten Alkohol könnte der lösliche Teil wieder gefällt werden. Die wässrige Lösung war nur bei Anwesenheit größerer Schleimmassen viskös. Hierdurch erklärt sich auch, weshalb fadenziehendes Brot nur in größeren Mengen Wasser viskös macht und weshalb flüssige Kulturen dieser Bakterien selten viskös werden. Die wässrige Lösung reduzierte Fehlingsche Lösung erst nach dem Erhitzen mit Salzsäure.

Die chemische Untersuchung der Trockensubstanz des in 50-proz. Spiritus löslichen Teile des Schleimes ergab folgende Zahlen:

Stickstoff = Protein	In Zucker überführbare Stoffe	Pentosane	Asche
1,80 Proz. = 11,25 Proz.	47,38 Proz.	4,10 Proz.	6,11 Proz.

Der geringe Stickstoffgehalt des Schleimes ist vermutlich auf die in dem Präparat noch vorhandenen Bakterien zurückzuführen. Der Hauptteil des Schleimes besteht aus Kohlenhydraten und zwar aus solchen der Hexosengruppe. Die Analyse zeigt einen Fehlbetrag von 31 Proz. Dazu ist zu bemerken, daß sich in der invertierten Lösung ein brauner Rückstand befand, der auf dem Filter zu einer papierartigen Masse zusammentrocknete. Es ist leider versäumt worden, ihn näher zu untersuchen. Vielleicht handelte es sich um Cellulose. Bei der Oxydation mit Salpetersäure lieferte der lösliche Schleim nur Zuckersäure, aber keine Schleimsäure. Jodjodkalium und Chlorzinkjod färbten ihn gelb, Jod und konz. Schwefelsäure rotbraun.

Die Zusammensetzung des in 50-proz. Alkohol unlöslichen Teiles des Schleimes war folgende:

Stickstoff = Protein	In Zucker überführbare Stoffe	Pentosane	Asche
8,09 Proz. = 58,13 Proz.	17,52 Proz.	4,01 Proz.	9,30 Proz.

Der unlösliche Teil bestand also zum größten Teil aus Protein, was nicht weiter befremden kann, da er vorwiegend sich aus Bakterien zusammensetzte. Er nahm bei gleichem Gewicht den doppelten Raum ein wie der lösliche und war faserig. Gegen Chlorzinkjod, Jod und Schwefelsäure verhielt er sich wie der lösliche Teil. Bei der Oxydation mit Salpetersäure hinterblieb eine faserige, papierartige Masse, welche sich mit Jod gelb, mit Chlorzinkjod violett färbte.

Die in fadenziehendem Brot vorkommenden Schleimkörper dürften also lösliche dextrinartige Kohlenhydrate der Hexosengruppe sein, welche Galaktosegruppen nicht enthalten.

Bacillus II und *Bacillus panis viscosus* I Vogel bilden auf Möhren ebenfalls Schleim, der sich nach den damit angestellten qualitativen Reaktionen ebenso verhalten dürfte wie der des *Bacillus* I.

A. Spieckermann (Münster.)

Referate.

Klessling, Fritz, Die Mikroorganismen in Natur und Technik. (Pharmaceutische Rundschau. Wien. Jahrg. XXIX. 1903. No. 4. p. 55—56. No. 5. p. 70—72. No. 6. p. 84—87. No. 7. p. 106—108.)

Eine leicht verständliche Zusammenfassung der neueren Ansichten über das Thema. Nichts wesentlich Neues.

Matouschek (Reichenberg).

Matruchot, L., Application d'un caractère d'ordre éthologique à la classification naturelle. (Comptes rendus de l'Académie des Sciences. 1. décembre 1902.)

—, Une Mucorinée purement conidienne, *Cunninghamella africana*. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. No. 1.)

Seit den Untersuchungen Brefelds und van Tieghems weiß man, daß die *Piptocephalis* notwendigerweise als Parasiten leben müssen, daß sie einzig und allein auf Kosten der Mucoraceen leben und daß alle Mucoraceen *Piptocephalis* als Parasiten bei sich beherbergen können.

Der Verf. sucht zu beweisen, daß ein *Piptocephalis* nur von einer Mucoracee als Parasit beherbergt werden kann. Zu diesem Zweck besäte er nach der Methode der gleichzeitigen Reinkulturen etwa 100 Pilzarten aller Gruppen mit *Piptocephalis* Van Tieghemiana. Die *Piptocephalis*-Kulturen auf allen anderen Pilzarten als den Mucoraceen mißlingen. Folglich muß der *Piptocephalis* als eine Art Reaktion bezüglich der Mucoraceen angesehen werden und erlaubt, sie ethologisch zu bestimmen infolge ihrer Eigentümlichkeit, ihm als Wirt zu dienen, die sie allein unter allen Pilzen besitzen. Der Verf. benutzt dieses Kennzeichen, um einen neuen, im Sudan gefundenen Pilz zu klassifizieren, dem er den Namen *Cunninghamella africana* gibt. Das Mycelium dieses Pilzes ist nicht mit Zwischenwänden versehen. Seine Konidien stehen einzeln auf sphärischen Köpfchen, in welche die Zweige eines ziemlich verästelten Bäumchens auslaufen. *Cunninghamella* kann *Pipt. Van Tieghemiana* als Wirt dienen, folglich gehört sie zu den Mucoraceen, obschon sie weder Sporangium noch Zygosporien aufweist. Sie hat große Ähnlichkeit mit einigen Mucedineen: *Ædocephalum albidum*, *Gonatotryst microspora*. Der Verf. glaubt, diese letzteren und *Cunninghamella africana* dem Genus *Choanephora* einreihen zu können und konstituiert mit diesen Genera einen neuen Stamm der Mucorineen, die Choanephoreen. Guilliermond (Lyon).

Zweite Abt. Bd. XI.

5

Störmer, K., Die Tätigkeit der Bakterien bei der Flachs- und Hanfröste. (Mitteilungen der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. Stück 32. 1903. p. 193.)

Die Isolierung solcher Gespinnstfasern, die im Pflanzenkörper in Form von Bastfasern, Gefäßbündeln u. s. w. in einem parenchymatischen Zellgewebe eingebettet liegen, ist meistens durch bloße mechanische Behandlung nicht zu erreichen, und man sucht seit altersher diese Isolierung dadurch zu bewirken, daß man die Gespinnstfasern der Einwirkung natürlicher Einflüsse bei Gegenwart von Feuchtigkeit unterwirft. Ein ähnlicher Vorgang wird auch angewendet, um die Gespinnstfasern des Flachses und des Hanfes zu erhalten, und man spricht hier je nach der Bereitung von einer Wasser- oder Landröste. Man hat schon frühzeitig erkannt, daß der hier obwaltende Gärungsvorgang durch ein Ferment oder durch einen Gärungspilz veranlaßt wurde, doch war es infolge der damaligen mangelhaften Ausbildung der bakteriologischen Forschung nicht möglich, zu einem bestimmten Resultat zu gelangen. In letzter Zeit hat Behrens endlich es recht wahrscheinlich machen können, daß eine Bakterienart, ein echtes Clostridium, die Wasserröste des Hanfes zu bewirken vermöge, und vor Behrens hat Fribes einen Organismus gefunden, zur Gattung Plectridium gehörig, welcher ebenfalls an der Wasserröste Anteil nimmt. Es sind somit zwei verschiedene Bakterienarten bestimmt als die Erreger der Wasserröste des Hanfes bzw. des Flachses nachgewiesen worden, und beide Organismen besitzen die spezifische Fähigkeit, Pektinstoffe zu vergären. Dagegen vermögen sie Zellulose nicht zu zersetzen. Verf. hat sich nun mit dem Studium der Flachs- und Hanfröste in der Absicht beschäftigt, die Isolierung und Reinkultur eines wirksamen Rösterregers zu erreichen, um diesen Organismus der Praxis zur Verfügung stellen zu können. Es gelang alsbald aus Röstmaterial in Reinkultur einen außerordentlich wirksamen Rösterreger zu isolieren, welcher im vegetativen Zustande ein ziemlich langes Stäbchen darstellt, welches bei der Sporenbildung an dem einen Ende knopfartig anschwillt und daher zu den Trommelschlägelbakterien oder Plektridien zu rechnen ist. Wegen seiner außerordentlichen Fähigkeit, Pektinstoffe zu zersetzen, erhielt er den Namen *Plectridium pectinovorum*. Dieser Pektinvergärer gehört zu den sogenannten anaëroben Organismen, er vermag sich in der eingepfachten Flüssigkeit sehr rasch zu vermehren und mit großer Kraft die Vergärung der zellverkittenden Zwischensubstanz aufzunehmen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß er in großen Mengen an den Stengeln des gärenden Flachses und Hanfes haftet und tief in das Zellgewebe, immer zwischen den Zellen sitzend, eindringt. Von dem Röstgut steigen beständig Gasbläschen auf, die aus Wasserstoff und Kohlensäure bestehen, und die Flüssigkeit selbst nimmt den Geruch von Buttersäure an. Diese drei Substanzen sind die hauptsächlichsten Zersetzungsstoffe, in welche *Plectridium pectinovorum* die Pektinstoffe zerlegt, durch welchen Prozeß bei dem Hanf und Flachs schließlich nur Holzkörper und Bastfasern zurückbleiben, welche letztere durch mechanische Bearbeitung von dem parenchymatischen Gewebe ge-

trennt werden. Nach allen Untersuchungen stellt sich der vorliegende Rösterreger denjenigen von Friebes und Behrens zur Seite, wenngleich er sich in einigen Eigenschaften ganz bestimmt von ihnen unterscheidet. Stift (Wien).

Bokorny, Th., Enthalten die keimenden Samen peptonisierende oder andere proteolytische Enzyme? (Archiv für Physiologie. Bd. XC. 1902. p. 94 ff.)

In den keimenden Samen geht der Eiweißzerfall außerordentlich rasch vor sich: und es werden die dort abgelagerten, oft großen Proteinkörner mit auffallender Geschwindigkeit gelöst und zersetzt.

Wenn jedoch die Proteinkörner der ruhenden Samen bei der Keimung gelöst und wanderungsfähig gemacht werden, so muß entschieden eine chemische Umwandlung derselben eintreten.

Man könnte nun dabei an eine Verwandlung in Pepton, welches ziemlich leicht diosmiert, oder auch weiterhin in einfache Amidokörper, wie z. B. Asparagin, Leucin, Tyrosin u. s. w. denken. Chemisch kann man bekanntlich beide Umwandlungen durch Kochen mit verdünnten Säuren oder physiologisch durch proteolytische Enzyme erzielen.

Die ruhenden Samen enthalten keine einfachen Amidokörper, wohl aber die gekeimten.

Es ist nunmehr die Frage aufzuwerfen und zu untersuchen, ob denn diese Amidokörper enzymatisch entstehen oder etwa durch gewöhnliche Protoplasmatätigkeit, welche ja zweifellos ebenfalls zur Spaltung von Eiweißkörpern und anderen Körpern führen kann. Der Verf. suchte zunächst nachzuweisen, ob echte Peptone in keimenden Samen sicher vorhanden sind, weiterhin ob peptische Enzyme, die ja bekanntlich eine Spaltung der Eiweißkörper bis zum Pepton als hauptsächlichstem Endprodukt bewirken, in den keimenden Samen ebenso wie im Tierkörper vorkommen können.

Aus den Versuchen geht indessen hervor, daß beim Keimen aus den Eiweißstoffen der Samen Albumosen, dann einfache Amidokörper sich bilden, welche letztere von verschiedenen Autoren bereits beschrieben worden sind.

Echte Peptone sind vom Verf. in keimenden Samen ebensowenig wie in ruhenden Samen aufgefunden worden.

Die Untersuchungen lassen weiterhin, vorausgesetzt daß man getrocknete Keimlinge der Selbstverdauung überläßt, auf die Tätigkeit eines proteolytischen Enzyms schließen, welches Albumosen in einfache Amidokörper umwandelt, nicht aber auf ein solches, welches die genuinen Eiweißkörper in Albumosen umformt.

Da nun die Albumosen in keimenden Samen sich vorfinden, in ungekeimten Samen indessen nicht aufgefunden werden, so muß sich wohl zweifellos während der Keimung ein Enzym bilden, welches die Globuline der Proteinkörner angreift und in Albumosen verwandelt.

5*

Da alsdann die Amidokörper, Asparagin, Leucin, Tyrosin u. s. w. lediglich in gekeimten Samen nachgewiesen werden können, nicht in ungekeimten, so ist ebenfalls sehr wahrscheinlich, daß auch solche Enzyme während der Keimung entstehen, welche weiterhin die Albumosen in die genannten einfachen Amidokörper umformen.

Durch die chemische Untersuchung, welche ein Fehlen der echten Peptone in Keimlingen in allen Fällen ergab, ist die Frage, ob ein peptisches Enzym bei der Keimung der Samen wirksam ist, im negativen Sinne vom Verf. entschieden. Es läßt sich jedoch ein tryptisches neben einem das Globulin in Albumose umwandelnden vermuten. Ersteres ruft eine Spaltung der Albumosen bis zu den einfachen Amidokörpern hervor, während peptische Enzyme das Eiweiß nur bis zum Pepton hydratisieren. Eine vielfach versuchte Isolierung der proteolytischen Enzyme aus Keimlingen hat bislang keine eindeutigen Resultate gezeitigt und es müssen deshalb erst weitere Untersuchungen abgewartet werden, um manche Widersprüche in dieser Hinsicht zu lösen.

Heinze (Halle a. S.).

Ikeno, Ueber die Sporenbildung und systematische Stellung von *Monascus purpureus* Went. (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. Bd. XXI. 1903. p. 259. Mit Tafel XIII. und 1 Textfigur.)

In einer Abhandlung über den von der malayischen Halbinsel stammenden „Samsu“ pilz zieht Barker die Angaben Wents und Uyedas über die Entwicklungsgeschichte des *Monascus purpureus* — Äng-Quac oder Benikoji genannt — in Zweifel. (Letzterer Pilz stammt aus Formosa und dient zur Herstellung des roten Reisgetränkes „Hochu“.) Auf Grund seiner Untersuchung unter Anwendung der modernen Mikrotechnik kommt Ikeno zu folgendem Resultat:

Die Sporenbildung von *Monascus purpureus* erfolgt durch freie Zellbildung, und zwar mit einer bestimmten Menge Cytoplasmas — sogenanntes Epiplasma — zwischen den Sporen. Die Sporenbildung erfolgt also nach dem Askomycetentypus. Hingegen beobachtete Ikeno ebensowenig wie Went und Uyeda die Entstehung askogener Hyphen aus dem Askogon. Die Annahme Barkers, Went hätte die Bildung der askogenen Hyphen nur übersehen, entspricht also nicht den Tatsachen. Ikeno bestätigt daher die von Went dem „Benikoji“ pilz zuerteilte Stellung unter den Hemiasceen Brefelds.

Hingegen gehört der von Barker untersuchte „Samsu“ pilz infolge des Auftretens askogener Hyphen zu den echten Askomyceten und muß daher aus der Gattung *Monascus* ausgeschieden werden.

Neger (Eisenach).

Bischoff, Ueber Eismilch. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLVII. Heft 1.)

Verf. stellt sich zunächst die Aufgabe, in frisch bezogener Marktmilch nach Bestimmung der vorhandenen Keimmenge zu beobachten, wie sich die Entwicklung dieser die Milch rasch verän-

dernden Organismen bei Einwirkung wechselnder, niederer Temperaturen verhält. Schließlich macht **Bischoff** dahingehende Versuche, die Milch nicht einer dauernden Kälteeinwirkung auszusetzen, ohne sie zur Gefrierung zu bringen, sondern sie in einem — 3 bis — 7° C temperierten Wildbretraum zur festen Gefrierung zu bringen. Und zwar wurde eine etwa 20 l fassende Milchtransportkanne zur Aufstellung gebracht. Autor kommt zu folgenden Resultaten: Für die Beurteilung der Marktmilch bietet der Säuregrad einen besseren Anhalt als die Keimzahl. Durch niedere Temperaturen kann Milch nur wenige Tage genußfähig erhalten werden. Mit dem Moment des Gefrierens tritt erst eine anhaltende Keimverminderung hervor, der Säuregrad bleibt aber derselbe. Das MilCHFett wird in feste Klümpchen verwandelt, die sich beim Erwärmen leicht auflösen und eine homogene Milch wieder entstehen lassen. Die Marktfähigkeit der gefrorenen Milch wird durch das allmähliche Auftreten von Eiweißausscheidungen zeitlich begrenzt. Durch das Gefrieren allein erfährt die Milch keine nennenswerte Preissteigerung. **Bischoff** empfiehlt die Eismilch für den Haushalt, wo sie sich bequem einen Tag lang, ohne daß Gerinnung eintritt, ungekocht aufbewahren läßt; bei sofortigem Bedarf gelingt es andererseits, sie schnell aufzutauen. Engels (Posen).

Salmon, E. S., Infection powers of ascospores in Erysiphaceae. (Journal of Botany. Vol. XLI. 1903. p. 159—165 und 204—212.)

Die Arbeit gibt eine gedrängte Uebersicht einer experimentellen Untersuchung, welche in extenso in den Beiheften des Botan. Centralblatts erschienen ist.

Ueber die Vorgänge beim Freiwerden und Keimen der Askosporen der Mehltaupilze war bisher wenig bekannt; die vorliegende Arbeit bringt sehr dankenswerte Angaben über diesen Gegenstand. Verf. ließ peritheciientragende Gerstenblätter trocken überwintern. In diesem Zustand enthalten die Schläuche von *E. graminis* bekanntlich keine Spur von Sporen. Dieselben entwickeln sich erst, wenn die Fruchtkörper befeuchtet werden. Die Ausbildung der Sporen, welche am besten bei einer Temperatur von 18° C erfolgt, nimmt meist nicht mehr als 3—5 Tage in Anspruch.

Die Oeffnung der Perithezien erfolgt spontan (also nicht wie bisher immer angenommen worden ist, durch Verrottung der Perithezienwand), und zwar bildet sich an dem mit Feuchtigkeit vollgesogenen Fruchtkörper in der Aequatorialebene ein horizontaler Spalt, welcher allmählich an Ausdehnung zunimmt, bis die obere Hälfte des Peritheciums als Deckel abgehoben wird. Die Sporen werden aus den Schläuchen gewaltsam ausgeschleudert, und zwar, wie Verf. beobachtete, häufig bis in die bedeutende Entfernung, z. B. 2 cm.

Der zweite Teil der Abhandlung beschäftigt sich mit der Frage der Spezialisierung des Parasitismus bei den Erysipheen.

Infektionsversuche mit reifen Askosporen wurden bisher erst einmal mit Erfolg von **Wolff** ausgeführt.

Die Untersuchung des Verf. hatte den Zweck, zu entscheiden,

ob die (vom Ref. für die Mehltapilze auf Grund von Konidieninfektionen nachgewiesene) Spezialisierung des Parasitismus auch für die Askosporen zutrifft, oder ob etwa der von Askosporen (einer und derselben Provenienz) infizierte Kreis von Wirtspflanzen größer (wie Ref. vermutet) oder kleiner (wie Marchal annimmt) ist, als der von Konidien angegriffene.

Das Resultat der zahlreichen Versuche des Verf. ist kurz, daß Askosporen von *E.* auf *Hordeum vulgare* stets nur wieder diese Pflanze, außerdem auch *H. zeocriton* und *H. trifurcatum* infizieren, nicht aber *Hordeum secalinum*, *jubatum*, *maritimum*, geschweige Vertreter anderer Gramineengattungen (wie *Avena*, *Secale* etc.). Demnach scheint sich die Spezialisierung des Parasitismus auch auf die Askosporen zu erstrecken. Nach Marchal soll allerdings *H. jubatum* durch *Oidium* (von *H. vulgare* stammend) infiziert worden sein.

Auf einige weitere interessante Beobachtungen des Verf. sei hier nur kurz hingewiesen, z. B. auf die nur kümmerliche und ganz vorübergehende Infektion von Pflanzen, welche sonst immun sind gegen den betreffenden Pilz (eine Beobachtung, welche der Ref. bestätigen kann), vom Verf. als „Subinfektion“ bezeichnet, ferner das verschiedene Verhalten der Haustorien, je nachdem sie auf der „richtigen oder „falschen“ Wirtspflanze gebildet werden, endlich die Bedingungen und Vorgänge bei der Keimung reifer Askosporen: Dieselben keimen im Wasser schon nach Verlauf von etwa 1 Stunde, unter Bildung von 1—2 Keimschläuchen (häufig an jedem Ende 1 Keimschlauch), ebenso in einem wässerigen Auszug von Weizenblättern, sowie in Zuckerlösung von 2 Proz. Dagegen wird die Keimung durch Zusatz von Essigsäure verhindert.

Die Inkubationszeit der Infektion mit Askosporen beträgt 5 Tage (seltener 4 oder 6) bei einer Temperatur von 16—20° C. Neger (Eisenach).

d'Almeida, José Veríssimo e de Souza da Camara, M., Estudos mycologicos. Trabalhos realizados no Laboratorio de Nosologia Vegetal do Instituto de Agronomia e Veterinaria. (Revista Agronomica. Vol. I. 1903. p. 20—26, 55—59, 89—92, cum tab.)

Die Verff. nennen und beschreiben eine Anzahl Pilze aus Portugal, Parasiten, welche größtenteils auf wichtigen Kulturpflanzen vorkommen. Aufgezählt werden folgende neue Species: *Ustilago Avenae* nov. form. foliicola auf den Blättern von *Avena sativa*.

U. Dracaenae n. sp. auf Blättern von *Dracaena Draco*.

Puccinia spec. (?) auf Blättern von *Sorghum halepense*.

Leptosphaeria Dracaenae n. sp. auf abgestorbenen Blättern von *Dracaena Draco*.

Phyllosticta concentrica nov. var. *Lusitanica* auf Blättern von *Hedera Helix*.

Ph. laurina n. sp. auf Blättern von *Laurus nobilis*.

Coniothyrium concentricum nov. var. *Pincenectiae* auf Blättern von *Nolina* (*Pincenectia*) *tuberculata*.

Diplodina Juglandis Brun. (an nov. spec.?) an den grünen Fruchtschalen von *Juglans regia*.

Stagonospora borbonicae n. sp. auf Blättern von *Latania borbonica*.
Pestalozzia ramosa n. sp. auf Ranken von *Vitis vinifera*.
Ovularia Cercidis auf Blättern von *Cercis Siliquastrum*.
Cercospora Bizzozzeriana n. var. *Drabae* auf Blättern von *Lepidium Draba*.
Macrosporium Geranii n. sp. auf Blättern von *Geranium sanguineum*.
Phyllosticta amphigena n. sp. auf Blättern von *Camellia japonica*.
Macrophoma edulis n. sp. auf Früchten von *Batatas edulis*.
Auerswaldia quercina auf Blättern von *Quercus humilis*.
Cercospora depazeoides nov. var. *amphigena* auf Blättern von *Sambucus nigra*.
Macrosporium Dianthi n. sp. auf Blättern von *Dianthus Caryophyllus*.
Phyllosticta Theobromae n. sp. auf Blättern von *Theobroma Cacao*.
Sporoctomorpha Magnoliae n. gen. et spec. auf Blättern von *Magnolia*.
Ascochyta graminicola nov. var. *aciliolata* auf Blättern von *Lolium italicum*, *perenne* und *Festuca pratensis*.
Diplodia punctifolia n. sp. auf Blättern von *Magnolia*.

Die neue Gattung *Sporoctomorpha* gehört zu den *Pyrenomycten*. Der Pilz bildet auf der Oberseite der Blätter kleine, schwarze Perithezien. Die Schläuche sind keulenförmig und von zahlreichen Paraphysen umgeben. Die Sporen sind vierzellig, hyalin, durch das mittlere Septum in zwei ungleiche Teile getrennt, 18–20 μ lang, 6–7 $\frac{1}{2}$ μ breit. H. Sydow (Berlin).

Spegazzini, C., *Mycetes Argentinenses. Series II.* (Anal. del Museo Nacional de Buenos Aires. Vol. VIII. 1902. p. 49–89.)

Es werden 139 Pilze aus Argentinien genannt, von denen eine große Anzahl neu ist. Von letzteren seien diejenigen, welche mehr parasitärer Natur sind, angeführt:

Polyporus Penningtonii auf Stümpfen von *Erythrina Christa-galli*.
Phaeosolenia platensis nov. gen. et spec. auf alten Zweigen von *Manihot carthagenensis*.
Entyloma Ameghinoi auf *Ranunculus Cymbalaria*.
Ustilago digitariicola auf *Digitaria sanguinalis*.
U. sorghicola auf *Sorghum vulgare*.
U. stipicola auf *Stipa setigera* und *filiculmis*.
Tilletia hypsophila auf *Stipa caespitosa* und *tenuissima*.
Uromyces hypsophilus auf *Euphorbia spec.*
Puccinia brachypus auf *Bromus auleticus* und *Triticum sativum*.
P. heliotropicola auf *Heliotropium campestre*.
P. triticorum auf kultivierten *Triticum*-Arten.
Uredo medicaginis auf *Medicago denticulata*.
Cystopus mikaniae auf *Mikania phyllopoda*.
Phyllachora? mutisiae auf *Mutisia*-Arten.
Ph. eleusines auf *Eleusine tristachya*.
Dothidella Arechavaletae auf *Ocotea acutifolia*.
D. platensis auf *Paspalum platense*.
Peckia mate auf *Ilex paraguayensis*.
Amerosporium platense an hoch hängenden Zweigen von *Manihot carthagenensis*.
Monilia platensis an faulenden Früchten von *Lycopersicum esculentum* u. s. w. H. Sydow (Berlin).

Scalia, G., *Di una nuova malattia dell' Asclepias curassavica Spr.* (Agricoltore Calabro-Siculo. Vol. XXVII. 1903. No. 24.)

Verf. schildert das Auftreten einer neuen Krankheit, welche auf *Asclepias curassavica* vorkommt und die Pflanze beträcht-

lich schädigt. Es handelt sich um den Vertreter einer neuen Pilzgattung, welche *Oidiopsis* benannt wird und deren Charaktere am besten aus der im folgenden wiedergegebenen Diagnose kenntlich sind:

Oidiopsis *Scalia* nov. gen. — Mycelium endogenum, septatum; conidiophori simplices vel parce ramosi e stomatibus exeuntes; conidia catenulata, cylindracea, conidio apicali sursum acutato, ceteris utrinque rotundato-truncatulis — Ab *Oospora* hyphis distinctis differt; Oidio omnino simillima, sed endophyta.

1. *O. sicula* *Scalia* — Maculis epiphyllis, purpureis vel pallidis, irregularibus, e nervis limitatis; conidiophoris hypophyllis, e stomatibus exeuntibus, solitariis vel fasciculatis, simplicibus sed non raro parce ramosis, ca. 7 μ crassis, septatis, tomentum albo-farinosum ut in *Peronospora* formantibus; conidiis catenulatis, facillime secedentibus, magnis, 40—70 \times 13 $\frac{1}{2}$ —20 μ ; conidio apicali sursum acutato, basi truncato rotundato, medio saepe parum constricto, ceteris cylindraceis, utrinque rotundato-truncatulis, hyalinis, eguttulatis, plasmate granuloso farctis, episporio levi praeditis.

Hab.: in foliis vivis *Asclepiadis curassavicae*, in viridariis, Sicilia.
H. Sydow (Berlin).

Pammel, L. H., Weems, J. B., Lamson-Scribner, F., The Grasses of Iowa. (Iowa Geological Survey. 525 pp. 220 Figuren und 3 bunte Tafeln. Iowa 1901. Des Moines.)

Das reich ausgestattete erschöpfende Werk über die Gramineen Jowas enthält p. 112—116, 182—291 die wichtigsten Pilzkrankheiten der Gramineen, insonderheit auch der Getreidearten. Keimlingskrankheiten werden verursacht durch *Penicillium glaucum*, *Eurotium glaucum*, *Rhizopus nigricans*, *Cladosporium*, *Macrosporium*, *Sterigmatocystis* und Bakterien. Von eigentlichen Pilzkrankheiten werden eingehend behandelt und durch Abbildungen erläutert:

- „Downy mildew of millet“ durch *Sclerospora graminicola* Schröt.
- „Ergot“ durch *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. (Vorkommen und Geschichte des Mutterkornpilzes in Amerika, Formen des Pilzes, Präventivmaßregeln).
- „Cat-tail Fungus“, *Epichloë typhina* (Pers.) Tul. und *Hypocreella* (*Hypoxylon* PN.) Sacc.
- „Powdery mildew“ durch *Erysiphe graminis* DC.
- Gibbellina Cerealis* Pass.
- „Black Spot Disease“ durch *Phyllachora graminis* (Pers.) Fuckel.
- „Brown Spot of Wheat Heads“ durch *Phoma Hennebergii* Kühn.
- „Brown Spot Disease“ durch *Septoria graminum* (nach Janczewski die Pyrnidenform zu *Leptosphaeria Tritici*, Konidienform *Cladosporium herbarum*).
- Cladosporium herbarum* (Pers.) Lk.
- „Spot Disease of Orchard Grass“, *Scolecotrichum* Fekl.
- „Yellow Leaf Disease of Barley“ durch *Helminthosporium graminum* Rbh.
- „Leaf browning of Corn“ durch *Helminthosporium turcicum* Pass.
- „Gray Spot Disease“ durch *Piricularia grisea* (Cooke) Sacc.
- „Wheat Scab“ durch *Fusarium roseum* Lk.
- „Smuts“: Von Brandpilzen werden besonders behandelt *Ustilago Maydis* DC., *U. Reiliana* Kühn, *U. Fischeri* Pass., *U. Sorghi* (Lk.) Wint., *U. cruenta* Kühn, *U. segetum* (Butt.) Ditt., *U. Avenae* (Pers.) Jensen, *U. Hordei* (Pers.) Kellerm., *U. Lorentziana* (wild barley smut), *U. nuda*, *U. neglecta* Niessl, *U. Syntherismae* (Schw.) Ell. et Ev., *U. bromivora* var. *macrospora*, *U. perennans*, *U. Panicum-miliacei*, *U. pustulata* Tracy et Early, *U. bullata*, *U. longissima* Sow., *U. Sacchari* Rbh., *U. hypodytes* Schlecht., *U. montanensis* Ell. et Holw., *U. Buchloë* Ell. et Tracy, *U. Andropogonis* Kellerm. et Swingle, *U. Aristidae* Pk., *U. Vilfae*, *U. spermophora* Bertz. et Curt.

„Bunts“: *Tilletia foetens* (B. et C.) Schröt., *T. Tritici* (Bjerk.) Wint., *T. Secalis* (Corda) Kühn, *T. Hordei* Koern., *T. Lolii* Auersw., *T. rotundata* Arth. Ell. et Ev., *T. Molinae* (Thüm.) Wint., *T. striaeformis* (Westd.) Magnus (Timothy Smut), *Urocystis occulta* Wallr. (Rye Smut), *U. Agropyri* (Preuss.) Schr. (Wild Rye Smut).

„Rusts“: Von Rostpilzen werden behandelt *Puccinia Sorghi* Schw. (*Zea Mays*); die Weizenroste *Puccinia graminis* Pers. f. *Tritici*, *P. glumarum* (Schmidt) Eriks. et Herm. f. *Tritici*, *P. rubigovera* (DC.) Wint.; die Haferroste *P. coronifera* Kleb., *P. coronata*, *P. graminis* f. *Avenae*; Gersteroste *P. graminis*, *P. simplex* Koern., *P. glumarum* f. *Hordei*; Roggenroste *P. graminis* f. *Secalis*, *P. glumarum* f. *Secalis*, *P. rubigo-vera* f. *Secalis*, *P. vexans* Farlow., *P. ramulata* Schweinitz, *P. Poarum* Nicls., *P. Anthoxanthi*, *P. Phragmitis*, *P. Magnusiana* Koern., *P. arundinacea*, *P. tornipara* etc. *Uromyces Dactylidis*, *U. graminicola*, *U. acuminatus*.

Bakterienkrankheiten: Bacteriosis of corn (*Bacillus cloaceae* Jordan = *B. Secalis*), Corn Wilt (*Pseudomonas Stewartii*), Sorghum blight (*Bacillus Sorghi* Burrill), Gummung of Sugar Cane (*Bacillus vascularum* Cobb.). Ludwig (Greiz).

Mangin, L., Sur la maladie du châtaignier causée par le *Mycelophagus Castaneae*. (C. R. Acad. Soc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 471.)

Als maladie de l'encre, pied noir oder „phylloxera“ ist in verschiedenen Departements eine Krankheit der *Castanea vesca* bekannt, die streckenweise die Bäume total vernichtet. Verf. erkannte als Schädling einen wurzelbewohnenden Pilz, *Mycelophagus Castaneae*, der in den Mykorrhizen lebt und nur sehr selten zu fruktifizieren scheint. Verf. stellt den Pilz zu den Oomyceten; sein Mycel ähnelt dem der Mukorineen, im Fruktifikationsstadium erinnert er an die Peronosporéen. In den angeschwollenen Hyphenenden entsteht eine dick- oder dünnwandige Spore, deren Membran Kallosereaktion gibt. Küster (Halle a. S.).

Thro, W. C., Distinctive characteristics of the species of the genus *Lecanium*. (Cornell Univ. agr. Exp. Stat., Bull. 209. 1903. 8°. p. 205—221. 5 Pls.)

Für die Diaspinen hat Comstock 1880 eine sichere und leichte Methode zur systematischen Bestimmung gezeigt. Bei sämtlichen anderen Schildläusen ist diese heute noch mehr oder weniger künstlich; d. h. es werden immer nur einzelne Merkmale, namentlich die Größenverhältnisse der Fühler berücksichtigt. So kommt es, daß bei einigen Schildlausgruppen, namentlich den Lecanien, eine sichere, zuverlässige Bestimmung heute nicht oder kaum möglich ist. Dem sucht nun Thro auf Anregung Comstocks hin abzuhelpen. Er beschreibt eine Anzahl *Lecanium*-arten unter besonderer Berücksichtigung der Borsten, der Analplatten, der Hautstruktur, der Tracheenöffnungen (Spiracula) u. s. w., gibt hiernach eine Bestimmungstabelle und eine Anzahl Umrißzeichnungen der betr. Gebilde. Ueber den praktischen Wert dieser Methode, der natürlich sehr erwünscht wäre, läßt sich noch nichts sagen; man muß erst sehen, wie sie sich der großen Formenfülle dieser Gruppe gegenüber bewährt. Reh (Hamburg).

Soli, G., Malattie della vite causate da parassiti animali. 44. pp. Mit 5 farb. Tafeln. Modena (Società tipografica modenese) 1902.

Dieses kleine Handbuch ist für weite Kreise, besonders für Landwirte, bestimmt. Daraus erklärt sich das Fehlen jeder Literaturangabe und die knappe, elementare Darstellung. Den besten Teil des Werkes dürften wohl die Tafeln darstellen, für deren naturgetreue Ausführung der Ruf des Verf. als Entomologe sichere Garantie leistet. In Bezug auf den Text vermißt Ref. eine genauere Kenntnis der Pflanzenpathologie und der neueren Forschungen. Diese sind aber mit Rücksicht auf das Ziel des Büchleins geringfügige Mängel, während die Genauigkeit der Angaben über die wichtigsten morphologischen Merkmale und die Lebensweise der einzelnen Parasiten, sowie über den äußerlich sichtbaren Gang der Krankheit und die Schutzmittel volle Anerkennung verdienen. Es werden 25 Parasiten besprochen und abgebildet, und zwar 22 Insekten und 3 Milben.

Pantanelli (Modena).

Daniel, Luc., Sur la structure du bourrelet dans les plantes greffées. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 323.)

Verf. untersuchte eine große Anzahl von Verwachsungsstellen an gepfropften Pflanzen (besonders Phaseolus auf Phaseolus, Nicotiana glutinosa auf Tomate). Die Verwachsung, der „bourrelet“, die Leitungsgewebe in ihm sind stets verschieden ausgebildet, wodurch der ungleiche Ausfall der beim Pfropfen erzielten Resultate sich erklärt.

Küster (Halle a. S.).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Siedentopf H., und Zsigmondy R., Ueber Sichtbarmachung und Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen, mit besonderer Anwendung auf Goldrubingläser. (Annalen der Physik. Bd. X. 1903.)

Es bestand seit längerer Zeit eine Polemik über die Größe und Eigenschaft der in den Rubingläsern enthaltenen kleinen Goldteilchen. Man wußte, daß sie unter dem Mikroskop nicht mehr sichtbar waren, da die Gläser unter diesem homogen erschienen. Die Größe der angenommenen Teilchen mußte also nach den Berechnungen von Abbe und Helmholtz unter der Größe einer halben Lichtwelle liegen. Die Rubingläser erschienen sogar auch bei der Dunkelfeldbeleuchtung homogen, und die Aufgabe, diese Teilchen der sichtbaren Darstellung zugänglich zu machen, mußte von vornherein aussichtslos erscheinen, da die Teilchen weit unter der Grenze dessen liegen mußten, was die besten Mikroskope auflösen vermögen. Eine Ueberlegung zeigt jedoch, daß selbstleuchtende Teilchen von hohem spezifischen Strahlungsvermögen mikroskopisch dennoch auflösbar sind, wenn selbst die Teilchen weit kleiner sind als eine halbe Wellenlinie der sichtbaren Lichtstrahlen. Es muß nur die Bedingung erfüllt sein, daß das Produkt aus spezifischer Intensität in die Fläche der leuchtenden Teilchen und dem Quadrat des Sinus des wirksamen Leuchtwinkels größer sei, als die untere Grenze für die Lichtempfindlichkeit des Auges. Die Abbildung unterliegt den gleichen Bedingungen wie die von

Sternen durch das Teleskop, d. h. wir bekommen ein Lichtbild — einen Lichteindruck — jedoch kein Strukturbild.

Unter diesen Umständen liegt die Grenze für die Sichtbarmachung weit unter dem von Abbe und Helmholtz festgesetzten Grenzwerte. Es handelt sich bei der Lösung des Problems darum, außerordentlich starke Lichtquellen wie Bogenlicht oder Sonnenlicht zu verwenden. Die kleinsten Teilchen beugen den Strahlenkegel ab, da infolge ihrer Kleinheit diese Teilchen ohne Einfluß auf die Phasen der beleuchtenden Strahlen zu selbstleuchtenden Teilchen werden. Da jedoch die beleuchtenden Strahlen eine größere Lichtintensität haben als die selbstleuchtend gewordenen Teilchen, muß man die Anordnung so treffen, daß die beleuchtenden Strahlen nicht in das Auge des Beobachters gelangen, d. h. im Prinzip die sogenannte Dunkelfeldbeleuchtung anwenden. Die Achse des Beleuchtungskegels muß senkrecht zu der Achse des für die Sichtbarmachung zur Geltung kommenden Beugungskegels stehen. Auf diese Weise wird es möglich, das stärkste überhaupt zur Verfügung stehende Licht ohne Blendungsgefahr zu verwenden.

Als ein Beispiel aus dem täglichen Leben zur Verständlichmachung der schwierigen Probleme sei erwähnt, daß die Sonnenstäubchen — das sind Teilchen von kleinster Dimension — nur dann sichtbar werden, wenn das Auge — ohne von den Sonnenstrahlen selbst getroffen zu werden — in einer zu den Sonnenstrahlen nahezu senkrechten Ebene auf die beleuchteten Stäubchen schaut. Es empfiehlt sich bei dem vorliegenden Problem aus optischen Gründen, den Gang der Strahlen zu regulieren. Man entwirft das Bild der Lichtquelle auf einen Präzisionsspalt und erzeugt so in der Einstellungsschicht des Beobachtungssystems einen genau bekannten und meßbar veränderlichen Querschnitt. Eine genaue Abbildung des Beleuchtungsapparats findet sich in der Arbeit. Ebenda findet sich auch die Beschreibung des Apparats, um die zu untersuchenden Stellen des Objektes in die Achse des Beleuchtungskegels zu bringen und ferner die Beschreibung des Apparates zur direkten Untersuchung von Flüssigkeiten. Die zu untersuchenden Präparate müssen (es handelt sich bei den vorliegenden Beschreibungen vorwiegend um Rubinglas) parallelepipedische Form haben und sorgfältige Politur an der dem Beleuchtungskegel zugewendeten Fläche aufweisen, um Blendungserscheinungen durch abirrende Strahlen zu verhüten. Um von den Einzelteilchen ein Lichtbild zu erhalten, muß der Abstand der Teilchen etwas größer sein als das Auflösungsvermögen des gewöhnlichen Mikroskops. Bei Flüssigkeiten ist diese Forderung leicht durch Konzentrationsänderungen zu erfüllen. Bei Anwendung dieser Methodik und homogener Immersion haben die Beugungsscheibchen der Goldteilchen in Rubingläsern z. B. eine scheinbare Größe von fast 1 mm, während ihre wahre Größe $0,02 \mu$ beträgt, was einer Vergrößerung von 20 000 gleichkäme. Theoretisch ergibt sich die Größe der kleinsten der Darstellung zugänglichen Flächen zu $36 \mu\mu^2$ ($\mu\mu$ eine neue Bezeichnung für $\frac{1}{1000} \mu$). Die mit dem beschriebenen Apparate angestellten Untersuchungen scheinen auch praktisch dieser der Größenordnung nach theoretisch bestimmten

Grenze für die Sichtbarkeit eines kleinsten Einzelteilchens recht nahe gekommen zu sein.

Es ergibt sich aus dem Vorhergehenden, daß es auch bei Anwendung intensivster Beleuchtung nach der im Anfange schon erwähnten Formel ausgerechnet, nicht möglich sein wird, Moleküle von mittlerer Größe (nach den bisherigen Berechnungen ca. $0,6 \mu\mu$) für das menschliche Auge direkt sichtbar zu machen. Ganz abgesehen davon, daß die Moleküle wegen ihrer geringen Brechkraft wahrscheinlich nicht zum Selbstleuchten zu bringen sind, müßte außerdem noch die Intensität der zur Beleuchtung verwendeten Strahlen erheblich die des Sonnenlichtes übertreffen. Eine Forderung, für deren praktische Erfüllung die Aussichten nicht gerade günstig sind. Der Sichtbarmachung großer Molekularkomplexe, wie sie z. B. dem Eiweiß, der Stärke u. s. w. zukommen, steht kein theoretisches Bedenken mehr entgegen. Es handelt sich um die Ueberwindung der technischen Schwierigkeit, daß zwischen dem Eiweißmolekül und dem zur Einbettung verwendeten Medium ein starker Brechungsunterschied herzustellen ist, damit von den sichtbar zu machenden Molekülen die Strahlen genügend stark abgelenkt werden. Beim Goldrubinglas gewähren die Brechungsverhältnisse ganz besonders günstige Beobachtungsbedingungen.

Im zweiten Teile der Arbeit wird die Methodik der Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen besprochen, im dritten Teil die Beziehung zwischen Farbe und Teilchengröße bei Goldrubingläsern behandelt. Die Mitteilungen haben im wesentlichen mathematisches bzw. physikalisches Interesse, und soll deshalb auf sie nicht weiter eingegangen werden.

Die Resultate dieser epochemachenden Untersuchungen sind ausführlich und möglichst verständlich dargestellt worden, damit jeder Mikroskopiker in der Lage ist, sich selbst ein Urteil zu bilden, welche Hoffnungen wir mit Recht auf den weiteren Ausbau dieser Methode setzen dürfen. Es ist von vornherein klar, daß die Anregungen, welche die morphologische und rein deskriptive Richtung der Medizin von dieser neuen Erfindung haben kann, beschränkte sind, da wir bei Anwendung dieser Methodik kein Strukturbild, sondern nur einen Lichteindruck erhalten. Dies ist der Nachteil des neuen Verfahrens, aber auch zu gleicher Zeit der große Fortschritt. Wir erfahren zwar wenig oder nichts von der Struktur des Körpers, aber wir erfahren, daß ein mit den Sinnen zu fassender Körper vorhanden ist, wo wir bisher dem ungreifbaren und daher geheimnisvollen Nichts gegenüberstanden. Die Zahl der Probleme, die weniger den Nachweis einer körperlichen Struktur als überhaupt den Nachweis erfordern, daß ein körperliches Etwas vorhanden ist, ist gerade in der Bakteriologie eine überaus große. Wir brauchen wohl nur auf die Zahl der Infektionskrankheiten hinzuweisen, deren Erreger noch unbekannt ist. Um diese, wenn sie vorhanden sind, aufzufinden, wird es vorläufig darauf ankommen, Versuche mit gegen die bisherige veränderter Technik anzustellen, um die Brechungsverhältnisse zwischen dem gesuchten Infektionserreger und dem einschließenden Medium möglichst verschiedenartig zu gestalten. Die jetzt schon in der Bakteriologie bei Geißelfärbung

etc. so viel angewendete Versilberungs- und Vergoldungsmethode wird wohl in der Zukunft berufen sein, eine noch größere Rolle zu spielen. Auch die in vielleicht naher Zukunft zu erhoffende Sichtbarmachung der Eiweißmoleküle läßt die große Entdeckung mit frohen Hoffnungen begrüßen. A. Wolff (Berlin).

Pollak, Alfred, Praktische Methode zur Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit von Malzpräparaten. (Pharmazeutische Post. Wien. Jahrg. XXXIV. 1903. No. 22. p. 313—315.)

Zur Bestimmung der enzymatischen Wirksamkeit von enzymatischen Malzpräparaten, die in der Medizin eine immer größere Verbreitung finden, hat v. Egloffstein eine praktische Methode ausgearbeitet, welche eine bequeme und exakte Bestimmung der diastatischen Kapazität erlaubt. Sie beruht darauf, daß jene Menge von gebildeter Rohmaltose maßanalytisch bestimmt wird, welche von einer Gewichtsmenge des zu untersuchenden Körpers in bestimmter Zeit, bei bestimmter Temperatur, unter bestimmten Mengenverhältnissen gebildet wird. Daher besteht die Methode aus einer empirisch gefundenen Vorprüfung, der eigentlichen Verzuckerung und der Rohmaltosebestimmung. Durch diese Anordnung ist man auch in der Lage, neben der exakten Bestimmung der verzuckernden Kraft der Analyse ihre stärkeverflüssigende Kraft zu kontrollieren und eventuell exakt auszudrücken. Jeder der 3 Teile der Methode wird vom Verf. erörtert und zuletzt ein praktisches Beispiel genau angeführt. Matouschek (Reichenberg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

12. Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz 1902. Nach Mitteilungen folg. Inhaber für Auskunftsstellen für Pflanzenschutz: Brick, Edler, Gisevius u. a., sowie der biolog. Abteilung f. Land- u. Forstwirtschaft am Kais. Gesundheitsamt Berlin . . . bearb. von Sorauer u. Hollrung. = Arb. d. dtchn. Landwirtschafts-Ges. 214 p. Heft 82. 1903. XXVIII. 2 M.
- Roth, E.**, Die Wechselbeziehungen zwischen Stadt und Land in gesundheitlicher Beziehung und die Sanierung des Landes. Braunschweig (Vieweg u. Sohn) 1903. VI, 74 p. 8°. 8 Taf.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Franke, M.**, Signalthermometer für die Fleischsterilisation. D.R.P. No. 144020. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIII. 1903. Heft 11. p. 345—346. 2 Fig.)
- Neubaus, E.**, Beitrag zur mikroskopischen Technik. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXIX. 1903. N. 32. p. 569—570.)
- Wichmann, H.**, Ist es wünschenswert, einheitliche biologische Untersuchungsmethoden einzuführen und auf Grund derselben eine einheitliche Beurteilung (insbesondere von Hefe, Bier, Brauwasser) anzubahnen? (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 32. p. 363—364.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Barnard, J. E. and Macfadyen, Allan**, On luminous bacteria. (Rep. of the 72. meet. of the British associat. for the advanc. of sc. Belfast 1902. London 1903. p. 801.)
- Benecke, W. und Keutner, J.**, Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee. Ber. d. dtshn. bot. Ges. Bd. XXI. 1903. Heft 6. p. 333—346. 4 Fig.)
- Bertarelli, E.**, Untersuchungen und Beobachtungen über die Biologie und Pathogenität des *Bacillus prodigiosus*. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 312—322.)
- Boullanger, E. et Massol, L.**, Études sur les microbes nitrificateurs. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 7. p. 492—515.)
- Carega, Alessandro**, Ueber die aktiven Substanzen des *B. coli*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 4. 323—326.)
- Eberhardt, Albert**, Zur Biologie von *Cystopus candidus*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1903. N. 20/21. p. 655—656.)
- Fabre, J. H.**, Les pucerons du térébinthe. (Souvenirs entomologiques. Ser. 8. 1903. p. 165—207.)
- Fremlin, H. S.**, On the cultivation of the nitroso-bacterium. (Journ. of hyg. Vol. III. 1903. N. 3. p. 364—379.)
- Gerlach, M. und Vogel, J.**, Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1903. N. 20/21. p. 636—643.)
- Hinse, G.**, Thiophysa volutans, ein neues Schwefelbakterium. (Ber. d. Dtschen bot. Ges. Bd. XXI. 1903. Heft 6. p. 309—316. 1 Taf.)
- Käster, Ernst**, Cecidologische Notizen. 2. Ueber zwei einheimische Milbengallen: *Eriophyes diversi punctatus* und *E. fraxinicola*. (Flora. Bd. XCII. 1903. Heft 3. p. 380—395.)
- Léger et Duboscq**, Sur l'*Adelea dimidiata coccidioides* Léger et Duboscq. — Coccidie parasite de la *Scolopendra oraniensis lusitanica* Verh. (Compt. Rend. Associat. franç. pour l'avanc. des sc. 31. sess. Montauban. Partie 2. 1903. p. 714—716.)
- Lindner, P.**, Die biologische Analyse der untergärigen Bierhefe mit Hilfe eines Vertrocknungsverfahrens. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 33. p. 369—370. 1 Fig.)
- Mayus, Oskar**, Die Peridienzellen der Uredinieen in ihrer Abhängigkeit von Standortverhältnissen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1903. N. 20/21. p. 644—655. 9 Fig.)
- Paterson, J. Hume**, On the Cause of Salmon Disease. (Rep. 72. meet. of the British assoc. for advanc. of sc. Belfast 1902. London 1903. p. 647—649. [*Bacillus Salmonis pestis*].)
- Plenge, H.**, Ueber die a-nukleinsaures Natron lösende Wirkung einiger Mikroorganismen. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXIX. 1903. Heft 2. p. 190—197.)
- Schittenhelm, Alfred**, Die Nukleinbasen der Faeces unter dem Einfluß anhaltender Fäulnis. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXIX. 1903. Heft 2. p. 199—202.)
- Schittenhelm, A. und Schröter, F.**, Ueber die Spaltung der Hefenukleinsäure durch Bakterien. Mitt. 1. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXIX. 1903. Heft 2. p. 203—207.)
- Simnitski, S.**, Beitrag zur Lehre des Einflusses der Kohlehydrate auf die Eiweißfäulnis. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXIX. 1903. Heft 2. p. 99—125.)
- Wosnessensky, E. und Elisseeff, E.**, Ueber die Atmungskoeffizienten verschiedener Heferasen in Rollkulturen auf diversen Stickstoffnährsubstanzen. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. X. 1903. N. 20/21. p. 629—636. 1 Fig.)
- Wrzosek, Adam**, De la pénétration des microorganismes de l'appareil digestif dans les organes internes à l'état normal. (Poln. Arch. f. biol. u. med. Wiss. Bd. II. Heft 1. p. 82—116.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Schattenfroh, A.**, Untersuchungen in einer Grundwasserversorgungsanlage. (Ztschr. f. Heilk. Bd. XXIV. 1903. Heft 7. p. 228—247. 4 Taf.)
- Springfeld**, Die Keimdichte der Förderungsanlagen zentraler Wasseranlagen im Re-

- gierungsbezirk Arnsberg. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. XXXV. 1903. Heft 3. p. 568—584. 8 Fig.)
- Vaillard**, L'épuration de l'eau potable en campagne. (Ann. d'hyg. publ. Sér. 3. T. L. 1903. N. 2. p. 129—167.)

Fleisch.

- Heine**, Zur Ausführung des Reichsfleischschaugesetzes. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIII. 1903. Heft 11. p. 340—342.)
- Hofmann, R.**, Fleischsterilisation mit niedrig temperiertem Dampf. [Schluß.] (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIII. 1903. Heft 11. p. 342—345.)
- Hüttner**, Ueber die hygienische Bedeutung der Fleischkonservierung. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. XXXV. 1903. Heft 3. p. 501—531.)
- Orttag, Robert**, Zur Ausführung des Fleischbeschaugesetzes. Antworten auf Anfragen. [Forta.] (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIII. 1903. Heft 11. p. 337—340.)

Bier, Brauerei.

- Struppel, Theodor**, Bier und seine Verfälschungen. Eine medizinisch-polizeiliche, hygienische Studie. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öffentliche Gesundheitspfl. Bd. XXXV. 1903. Heft 3. p. 532—542.)

Wein, Weinbereitung.

- Desmoulins, A. M.**, Les vins fleuris en barriques ou en foudres. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 60. p. 240.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Wohmer, C.**, Die Sauerkrautgärung. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. X. 1903. N. 20/21. p. 625—629.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Rapp, Rud.**, Ueber desinfizierende Wandanstriche. (Hyg. Rundsch. Jg. XIII. 1903. N. 15. p. 759—760.)
- Schwer**, Versuche mit Fußbodenöl und seine Verwendung in Schulen. Teil II. Leipzig 1903. 28 p. 8°. 70 Pf.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Acetylenlampe zum Fang der Heu- und Sauerwurmmotten und für Beleuchtungszwecke. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 32. p. 321.)
- Constantin, J. et Gallaud**, Sur la „Mancha“, maladie du cacaoyer. (Rev. des cult. colon. Année VII. 1903. N. 129. p. 33—37; N. 130. p. 65—69. 6 Fig.)
- Gairaud, D.**, Les traitements d'ensemble contre les maladies cryptogamiques. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 60. p. 244.)
- Magnus, P.**, Kurze Bemerkung zur Biologie des Chrysanthemumroster. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 18/19. p. 575—577.)
- Peglion, Vittorio**, Di una speciale infezione crittogamica dei semi di erba medica e di trifoglio. (Atti d. R. Accad. dei Lincei. T. XII. 1903. Fasc. 7. p. 270—274.)
- Pepper vine disease in the Wynaad. (The trop. agriculturist, Colombo. Vol. XXII. 1903. N. 12. p. 306—307.)
- Rivière, Ch.**, La teigne des platanes. (Rev. des cult. colon. Année VII. 1903. N. 128. p. 306.)
- Smith, Annie Lorrain**, A Disease of the Gooseberry, with Notes on Botrytis and Sclerotium. (Rep. of the 72. meet. of the British assoc. for the advanc. of sc. Belfast 1902. London 1903. p. 816.)
- Stump rot in tea and coffee. (The tropic. agriculturist, Colombo. Vol. XXII. 1903. N. 12. p. 846—847. [Madras Mail.])
- The „Tea“ tortrix: the greatest existing tea enemy. (The tropic. agriculturist, Colombo. Vol. XXII. 1903. N. 12. p. 822—823.)

- Vaüha, J.**, Eine neue Blattkrankheit der Rübe. *Microsphaera Betae* n. sp. (Ztschr. f. Zuckerind. i. Böhmen. Bd. XXVII. 1903. p. 180.)
- Warburton, Cecil**, Orchard and bush-fruit pests and how to combat them. (Journ. of the R. agricult. soc. of England. Vol. LXIII. 1902. p. 115—134. 12 Fig.)
- Zschokke**, Versuche über die Wirksamkeit der Fanglampen zur Bekämpfung von Rebenschädlingen. (Weinbau und Weinhandel. Jg. XXI. 1903. N. 32. p. 343.)
- Zur Bekämpfung der Reblaus im Elsaß. (Weinbau- u. Weinhandel. Jg. XXI. 1903. N. 31. p. 327—328.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Bertarelli, E.**, Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle, mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. (Schluß), p. 45.
- Diedicke, H.**, Ueber den Zusammenhang zwischen Pleospora- und Helminthosporium-Arten. II., p. 52.
- Mereshkowsky, S. S.**, Ueber die Einwirkung der Anilinfarben auf Invertin, p. 33.
- Zikes, Heinrich**, Die Wachstumserscheinungen von *Bacterium Zopfii* auf Peptongelatine, p. 59.

Referate aus bakteriologischen und gährungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Landwirtschaftliche Versuchstation in Münster i. W.

- König, J. und Spieckermann, A.**, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Klebewesen. II. Das Fadenziehendwerden des Brotes von J. Tillmann, p. 61.

Referate.

- d'Almeida, José Verissimo e de Souza da Camara, M.**, Estudos mycológicos. Trabalhos realizados no Laboratório de Nosologia Vegetal do Instituto da Agronomia e Veterinaria, p. 70.
- Bischoff**, Ueber Eismilch, p. 68.
- Bokorny, Th.**, Enthalten die keimenden Samen peptonisierende oder andere proteolytische Enzyme? p. 67.
- Daniel, Luc.**, Sur la structure du bourrelet dans les plantes greffées, p. 74.
- Ikeno**, Ueber die Sporenbildung und systematische Stellung von *Monascus purpureus* Went., p. 68.

- Kiessling, Fritz**, Die Mikroorganismen in Natur und Technik, p. 65.

Mangin, L., Sur la maladie du châtaignier causée par le *Mycelophagus Castaneae*, p. 73.

Matruchot, L., Application d'un caractère d'ordre éthologique à la classification naturelle, p. 65.

—, Une Mucorinée purement conidienne, *Cunninghamella, africana*, p. 65.

Pammel, L. H., Weems, J. B., Lamson-Scribner, F., The Grasses of Iowa, p. 72.

Salmon, E. S., Infection powers of ascospores in Erysiphaceae, p. 69.

Scalia, G., Di una nuova malattia dell' *Asclepias curassavica* Spr., p. 71.

Soli, G., Malattie della vite causate da parassiti animali, p. 73.

Spegazzini, C., *Mycetes Argentinenses*. Series II., p. 71.

Störmer, K., Die Tätigkeit der Bakterien bei der Flachs- und Hanfröste, p. 66.

Thro, W. C., Distinctive characteristics of the species of the genus *Lecanium*, p. 73.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Siedentopf, H. und Zsigmondy, R., Ueber Sichtbarmachung und Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen, mit besonderer Anwendung auf Goldrubingläser, p. 74.

Pollak, Alfred, Praktische Methode zur Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit von Malzpräparaten, p. 77.

Neue Litteratur, p. 77.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 27. Oktober 1903.

No. 3.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch
Bakterien.**

Von **A. van Delden,**

Assistent am Bakteriologischen Laboratorium der Polytechnischen Hochschule
in Delft.

Mit 1 Tafel.

In einer Abhandlung Prof. Beijerincks, die im Jahre 1895
in dieser Zeitschrift erschien, wurde als Ursache der Sulfatreduk-

Zweite Abt. Bd. XI.

6

tion¹⁾ in unseren Gewässern ein kleines Spirillum beschrieben und die Methoden angegeben, um diesen Organismus zu isolieren. Eine Rohkultur von diesem als *Spirillum desulfuricans* bezeichneten Organismus, welchen wir nach dem Beispiele von Migula weiterhin *Microspira desulfuricans* nennen werden, wurde gewonnen durch einen Anhäufungsversuch in Grabenwasser mit

$\frac{1}{20}$ Proz. K_2HPO_4

$\frac{1}{10}$ — „, Proz. Kaliummalat oder Kaliumlaktat

$\frac{1}{4}$ Proz. Pepton oder Asparagin

und eine Spur Ferrosulfat oder auch in Grabenwasser mit einigen Tropfen Malzextrakt und Ferrosulfat. In mehreren Proben verschwand die Schwefelsäure fast gänzlich aus der Kulturflüssigkeit.

Bei den Versuchen, diese als Anaërobe erkannte Bakterie rein zu kultivieren, wurden in der mit Agar erstarrten genannten Nährflüssigkeit zwischen Glasplatten durch Schwefeleisen dunkelschwarz gefärbte Kolonien erhalten, worin sich mikroskopisch die Mikrospirillen als stark bewegliche, sehr feine Mikroben erkennen ließen. Wurden solche Kolonien auf Fleischbouillongelatine abgestrichen, dann ergab sich, daß sie meistens aus einem Gemisch von *Microspira desulfuricans*, welche auf der Platte nicht wachsen konnte, und *Aërobacter coli* var. *infusionum* bestanden. Während diese Coli-Form für die Sulfatreduktion an und für sich bedeutungslos ist, ist ihre Gegenwart in den rohen Sulfatreduktionen so allgemein, daß wir besonders darauf hinweisen (s. unten Abschnitt 2).

Auf Veranlassung Prof. Beijerincks unternahm ich es, diese Untersuchungen zu erweitern, und zugleich die Ursache der starken Schwefelwasserstoffbildung an unseren Seeküsten, namentlich in unseren Aestuarien (holländisch „Wadden“), wo der Schlamm bis auf viele Meter Tiefe (die genaue Dicke der Schicht ist noch nicht bekannt) durch die Gegenwart von infolge der Sulfatreduktion entstandenem Schwefeleisen tief schwarz gefärbt ist, während die farblose oxydierte Oberfläche nur wenige Centimeter oder Millimeter dick ist, zu ermitteln. Dieses Verhältnis zeigt, wie groß die Bedeutung der Sulfatreduktion außer in biologischer, auch in geologischer Hinsicht sein muß.

Es stellte sich heraus, daß die im Meereswasser aktive Form spezifisch von *M. desulfuricans* verschieden ist. Ihre Gegenwart an eben der genannten Stelle gab Prof. Beijerinck²⁾ Veranlassung, diese Art als *Microspira aestuarii* zu bezeichnen.

Im 3. Abschnitt dieser Abhandlung werden wir den Zusammenhang der Sulfatreduktion mit den Verunreinigungen der Gewässer näher besprechen und zeigen, daß die Sulfatreduktion Bedeutung hat für die biologische Reinigung von Flüssen und Kanälen.

1) Beijerinck, M. W., Ueber *Spirillum desulfuricans* als Ursache der Sulfatreduktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 1, 49, 804.)

Le *Spirillum desulfuricans* comme agent de la reduction des sulfates. (Arch. Néerlandaises. T. XXIX. p. 233—277.)

2) Handelingen van het negende Nederlandsch Natuur en Genesks. Congres. 1903.

I. Sulfatreduktion in süßem Wasser.**1. Sulfatreduktion mit Rohkulturen.**

Die Fähigkeit unserer Organismen, Sulfate reduzieren zu können, macht es möglich, wie ich oben bemerkt habe, dieselben durch einen einfachen Anhäufungsversuch in Rohkulturen zu bekommen.

Die Luft muß dabei abgeschlossen werden, was sehr leicht und sehr einfach zu erreichen ist durch die Kultur in einer gewöhnlichen Stöpselflasche; die Kulturflüssigkeit muß außer Sulfaten noch eine genügende Menge organischer Nahrung enthalten, denn die viel Energie fordernde Reduktion der Schwefelsäure ist nur möglich, wenn zugleich organische Stoffe zugegen sind, welche die reduzierenden Bakterien oxydieren können, um diese Energie zu gewinnen.

Wenn ich gutes Infektionsmaterial — worüber unten Näheres — verwendete, gelangen die Versuche immer mit der folgenden Kulturflüssigkeit:

Leitungswasser	100
K ₂ HPO ₄	0,05
Natriumlaktat	0,5
Asparagin	0,1
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,1 (oder Gips)
Ferrosulfat	Spur

Nach einer Kultur von 4—5 Tagen bei 28° C, bisweilen auch schon eher, zeigte die Schwarzfärbung der Flüssigkeit das Eintreten der Sulfatreduktion an, und ich habe das Fortschreiten derselben weiter verfolgt durch die Mengen der gebildeten H₂S mit $\frac{1}{100}$ -Normal-Jodlösung zu titrieren. Mit einer Pipette wurden 5 bis 20 ccm Kulturflüssigkeit in eine bekannte Menge stark verdünnter ¹⁾ Jodlösung gebracht und der Ueberschuß an Jod wurde zurücktitriert mit $\frac{1}{100}$ -Normal-Natriumthiosulfatlösung und Amylum als Indikator.

Als Infektionsmaterial habe ich fast immer ein wenig Schlamm aus einem der älteren Stadtgräben von Delft genommen; zwar gelang es, auch die Gegenwart der sulfatreduzierenden Spirillen in weniger verunreinigten Wässern und Schlamm nachzuweisen, doch die Impfung hiermit führte nicht immer zum Ziele. Eine Vermehrung der organischen Nahrung in der Kulturflüssigkeit, z. B. bis auf 1 Proz. Natriumlaktat, war keine Verbesserung; sie gab zwar ein stärkeres Bakterienwachstum, aber die Sulfatreduktion ließ auf sich warten; die Spirillen waren hier wahrscheinlich schon im Beginn gänzlich überwuchert durch andere Bakterien und abgestorben. Wenn man nur ein Material, das sehr wenig Reduktionsspirillen enthält, zur Verfügung hat, ist es besser, nicht mehr als $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{4}$ Proz. Laktat zu geben und zugleich, wie unten näher erörtert werden wird, etwas Natriumsulfit zuzusetzen und nachher in eine Flüssigkeit ohne Sulfit überzuimpfen. Auf diese Weise gelang es mir, die Sulfatspirillen aus Gartenerde zu isolieren.

¹⁾ Vergl. Mohr-Classen, Lehrbuch der chem.-analyt. Titriermethode, 7. Aufl. 1896. p. 333.

Die mit Grabenschlamm infizierte Kulturflüssigkeit wurde am 2. oder 3. Tage nach der Impfung leicht trübe und färbte sich bald darauf allmählich schwarz durch die Bildung von Schwefeleisen, das sich später in Flocken auf den Boden oder gegen die Wand der Flasche absetzte.

Man findet in älteren Kulturen die reduzierenden Organismen nicht leicht mit dem Mikroskope, erstens sind sie hier in geringer Zahl vorhanden, und zweitens haben sie zum größten Teil ihre Bewegung verloren und ihre Form geändert, wodurch sie unkenndbar geworden sind. In jungen Kulturen, worin die Schwefelwasserstoffbildung weniger weit vorgeschritten ist, sind leicht Stäbchen — wahrscheinlich *Coli* — zu finden, welche man auf den ersten Blick für die gesuchten Bakterien ansehen könnte, doch bemerkt man, wenn man genauer zusieht, noch eine kleine, sich sehr schnell bewegendende Bakterie, welche deutlich Spirillen-(*Microspira*-)Form hat und von Prof. Beijerinck als *Spirillum (Microspira) desulfuricans* beschrieben wurde.

Mit den Rohkulturen wurde eine Anzahl von Versuchen gemacht, von denen ich eine Auswahl, in eine Tabelle vereinigt, folgen lasse (Tab. I p. 85).

Aus diesen Zahlen ist sofort zu ersehen, daß Wasser, welche stark mit organischen Stoffen verunreinigt sind und zugleich Sulfate enthalten, reichliche Mengen H_2S entwickeln können. So beweist Versuch 3, daß in unserem Grabenwasser alles Sulfat reduziert werden kann, ohne Zufügung organischer Nahrung. Eine Kultur im Thermostaten ist dafür nicht notwendig, denn in dem Graben selbst konnte ich im Schlamm sowie im Wasser die Abwesenheit von Sulfaten konstatieren durch die negativ ausfallende Reaktion mit Chlorbaryum. Den umgekehrten Fall, also das Fehlen der organischen Stoffe, haben wir vor uns in den Versuchen 13—18, welche deutlich beweisen, daß die Sulfatreduktion mit der Zufügung organischer Nahrung im engsten Zusammenhang steht; wir sehen jedesmal die aufgehörte Schwefelwasserstoffbildung sogleich wieder aufs Neue beginnen nach der Zusetzung neuer Nährstoffe für die reduzierenden Bakterien. Auf diesen wichtigen Punkt werde ich unten noch zurückkommen.

Die Mehrzahl der Versuche zeigen, daß die Konzentration des Schwefelwasserstoffes sehr hoch sein kann, ohne daß die Sulfatspirillen dadurch abgetötet werden; in Versuch 20 wurden sogar 246 mg H_2S titriert, was übereinstimmt mit 580 mg SO_3 pro Liter Kulturflüssigkeit, ein so hoher Schwefelwasserstoffgehalt, wie er wahrscheinlich unter natürlichen Verhältnissen niemals vorkommen wird. Die höchste Ziffer, welche in unseren Stadtgräben, als das Wasser darin infolge einer Reparation an einer der Schleusen längere Zeit stagniert hatte, gefunden wurde, ist 18 mg H_2S pro Liter¹⁾. Einen sehr hohen Schwefelwasserstoffgehalt fand auch Miquel in seinen Versuchen über die Bildung dieses Gases aus

1) Verslag betreffende het onderzoek van de oorzaken van den vervuilden toestand der kanalen tusschen de Maas en Scheveningen en de middelen tot verbetering. Juni 1898.

Tabelle I.
Sulfatreduktion mit Rohkulturen von *M. desulfuricans*.

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	mg pro Liter			Bemerkungen
			H ₂ S	SO ₃		
				ge- funden	zu- gesetzt	
1. 12.–21. März 1901	Grabenwasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,1 Na-Laktat 0,5 Gips Grabenschlamm	9	98,6	232	—	Schwefelsäure nicht verschwunden, 10. April H ₂ S nicht zugenommen
2. 21. März bis 15. April	Grabenwasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,1 Na-Laktat 0,25 Grabenschlamm	25	195	460	—	Keine Stickstoffnahrung gegeben, 26. März Gips zugesetzt
3. 19.–26. März	Grabenwasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,1	7	19,0	44,8	—	Keine organische Nahrung gegeben, Schwefelsäure verschwunden
4. 20. März bis 7. April	Grabenwasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Ca-Laktat 0,5	30	95,2	224	—	4. April 200 mg Gips hinzugefügt. Keine Stickstoffnahrung
5. 17. April bis 14. Mai	Grabenwasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Na-Laktat 2,5 Asparagin 0,5	7	20,4	48,0	—	SO ₃ verschwunden; also im Leitungs- wasser gefunden 48 mg SO ₃ pro Liter
6. 17.–24. April	Wie No. 5 mit noch 150 mg Gips	7	93,5	220	139,5	SO ₃ verschwunden. Total SO ₃ = 139,5 + 48 = 187,5
7. 17.–24. April	Wie No. 5 mit noch 300 mg Gips	7	110	260	279	SO ₃ verschwunden Total SO ₃ = 279 + 48 = 327
8. 17.–24. April	Wie No. 5 mit noch 450 mg Gips	7	122	288	418,5	Noch Schwefelsäure Total SO ₃ = 418,5 + 48 = 466,5
9. 17. April bis 13. Mai	Wie No. 5 mit noch 600 mg Gips	26	187	440	558	SO ₃ verschwunden Total SO ₃ = 558 + 48 = 606
10. 14. März bis 4. April	H ₂ O 500 K ₂ HPO ₄ 0,1 (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,1 Na-Laktat 0,5 MgSO ₄ 7H ₂ O 0,3	20	37,4	88	195	Schwefelsäure nicht verschwunden. 10. April H ₂ S nicht vermehrt
11. 14. März bis 4. April	H ₂ O 500 K ₂ HPO ₄ 0,1 Glykokoll 0,1 Na-Laktat 0,5 MgSO ₄ 7H ₂ O 0,3	20	54,4	128	195	Schwefelsäure nicht verschwunden
12. 16.–24. April	H ₂ O 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Pepton 0,25 Glukose 0,25 Gips 0,2	8	80	188	186	Schwefelsäure verschwunden
13. 14. Mai bis 19. Juni	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Glukose 0,5 CaCO ₃ 0,5 Gips 0,6	36	20,4	48	558	Keine Stickstoffnahrung. Schwefel- säure nicht verschwunden

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	mg pro Liter			Bemerkungen
			H ₂ S	ge- funden	zu- gesetzt	
14. 24. Mai	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 NH ₄ Cl 0,25 Glukose 0,25 Gips 0,6	—	136	320	558	29. Mai gefund. 80 mg SO ₃ reduz. 3. Juni " 88 " 3. „ zugesetzt 0,5 g „Glukose“ 11. „ waren 280 mg SO ₃ reduz.
15. 24. Mai	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 NH ₄ Cl 0,25 Na-Laktat 0,25 Gips 0,6	—	173	408	558	29. Mai gefund. 116 mg SO ₃ reduz. 3. Juni " 120 " 3. „ zugesetzt 0,5 g „Na-Laktat“ 11. „ waren 248 mg SO ₃ reduz.
16. 24. Mai	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 0,25 Na-Acetat 0,25 Gips 0,6	—	166	392	558	29. Mai gefund. 44 mg SO ₃ reduz. 3. Juni " 36 " 3. „ zugesetzt 0,5 g „Asparagin“ und 0,5 g Na-Acetat 11. „ waren 84 mg SO ₃ reduz.
17. 24. Mai	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 0,25 Na-Laktat 0,25	—	170	400	558	29. Mai gefund. 160 mg SO ₃ reduz. 31. „ 160 " 3. Juni zugesetzt 0,5 g „Asparagin“ 0,5 g Na-Laktat 11. „ waren 188 mg SO ₃ reduz.
18. 31. Mai bis 11. Juni	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 0,5 Na-Laktat 2,5 Gips 0,5	11	210	496	558	
19. 19. Juni bis 1. Aug.	Leitungswasser etc. wie No. 18	42	224	528	558	
20. 19. Juni bis 1. Aug.	Leitungswasser etc. wie No. 18	41	246	580	558	22 mg SO ₃ per Liter wurde mehr gefunden als zugesetzt war, muß also aus dem Leitungswasser kommen; vergl. No. 5
21. 2.—30. Okt.	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 0,5 Na-Laktat 1,25 MgSO ₄ 7H ₂ O 2,—	28	212	500	1300	SO ₃ nicht verschwunden
22. 2.—30. Okt.	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 1,25 Na-Laktat 2,5 MgSO ₄ 7H ₂ O 2,—	28	212	500	1300	Schwefelsäure nicht verschwunden
23. 3.—27. Aug.	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 0,5 Na-Succinat 1,25 Gips 0,6	24	131	308	558	Schwefelsäure nicht verschwunden
24. 3.—27. Aug.	Leitungswasser 500 K ₂ HPO ₄ 0,25 Asparagin 0,5 Kal-Succinat 1,25 Gips 0,6	24	216	508	558	Schwefelsäure verschwunden

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	mg pro Liter			Bemerkungen	
			SO ₃				
			H ₂ S	ge- funde	zu- gesetzt		
25. 3.—27. Aug.	Leitungswasser K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Citrat Gips	500 0,25 0,5 1,25 0,6	24	131	308	558	Schwefelsäure nicht verschwunden
26. 3.—27. Aug.	Leitungswasser K ₂ HPO ₄ Asparagin Kal.-Malat Gips	500 0,25 0,5 1,25 0,6	24	139	328	558	Schwefelsäure nicht verschwunden
27. 3.—27. Aug.	Leitungswasser K ₂ HPO ₄ Asparagin Kal.-Tartrat Gips	500 0,25 0,5 1,25 0,6	24	121	284	558	Schwefelsäure nicht verschwunden
28. 3.—27. Aug.	Leitungswasser K ₂ HPO ₄ Asparagin Gips	500 0,25 0,5 0,6	24	78,2	184	558	Schwefelsäure nicht verschwunden

Kautschuk, wobei allerdings nicht ein Sulfat, sondern die Schwefel des vulkanisierten Kautschuks als Schwefelwasserstoffquelle fungierten ¹⁾).

Eine Optimumtemperatur für die Sulfatreduktion ließ sich nicht zwischen engen Grenzen bestimmen; am günstigsten verliefen die Versuche bei 25–30° C, bei 37° C fand noch eine kräftige H₂S-Bildung statt, aber weniger stark als bei Zimmertemperatur, bei 28° C wurde der höchste H₂S-Gehalt, den ich überhaupt titrierte, in 2–3 Wochen erreicht.

Aus den Versuchen über die Nahrung der sulfatreduzierenden Organismen im allgemeinen folgt, daß die meisten in verunreinigten Wässern vorkommenden organischen Verbindungen für die Schwefelwasserstoffbildung dienen können; von den organischen Salzen sind Laktate, Malate und Succinate am geeignetsten, und von den Stickstoffverbindungen können Asparagine, Pepton und Ammonsalze durch die Spirillen assimiliert werden; Salpeter verhindert aber die Sulfatreduktion. — Dieser Körper kann, in kleinen Quantitäten (bis $\frac{1}{50}$ Proz.) zugesetzt, durch unsere Spirillen als Stickstoffquelle benutzt werden, aber er wird unter Bildung von Nitrit und vielleicht von Ammoniak reduziert, und erst, wenn alles Nitrat und Nitrit aus der Flüssigkeit verschwunden ist, beginnt die Sulfatreduktion.

Weil im gewöhnlichen Kanal- oder Flußwasser nach Zufügung von wenig Kaliumphosphat, Natriumlaktat und Asparagin die Sulfatreduktion möglich gemacht wird — etwa vorhandener Salpeter wird dabei schnell durch denitrifizierende Bakterien zerstört

¹⁾ Miquel, P., Biogénèse de l'hydrogène sulfuré. (Annales de Micrographie, I. 1888–89. p. 323 u. 364.)

— könnte vielleicht auf diese Weise der Schwefelsäuregehalt in Wasserproben mittels einer jodometrischen Titrierung bestimmt werden, was von Nutzen sein könnte, wo man eine sehr große Zahl Proben zu untersuchen hat und sich schnell über deren Schwefelsäuregehalt orientieren will.

2. Die Isolierung von *Microspira desulfuricans*.

In der zitierten Abhandlung Prof. Beijerincks wurde eine Beschreibung der Kolonien von *Microspira desulfuricans* gegeben, aber damals wurden keine Versuche mit Reinkulturen vorgenommen. Um quantitative Daten, betreffend den Verband der Sulfatreduktion mit der Oxydation organischer Stoffe, zu gewinnen, war es unbedingt nötig, mit Reinkulturen zu arbeiten.

Die Isolierung der Reduktionsspirillen gelang mir am besten in Reagenzröhrchen, welche zu ungefähr zwei Drittel angefüllt wurden mit:

Leitungswasser	100,0
Gelatine	10,0
Natriumlaktat	0,5
Asparagin	0,1
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,1
K ₂ HPO ₄	0,05
Mohr's Salz	Spur

Die gesuchten Organismen entwickeln sich in Agar bei 30° C zwar besser als in Gelatine, aber das reine Ueberimpfen der in ersterem Medium gewachsenen Kolonien wird sehr erschwert durch die ausgepreßte Flüssigkeit, wodurch eine Infektion mit anderen Kolonien oft nicht zu vermeiden ist. Die Kultur in Reagenzröhrchen hat gegenüber anderen Methoden den Vorteil, daß man die Kolonien nach und nach mit einem dünnen, umgebogenen Platinspaten leicht herausheben kann, ohne die ganze Kultur der Luft auszusetzen.

Gewöhnlich 3—6 Tage nach der Herstellung der Kultur erscheinen die reduzierenden Kolonien als kleine schwarze Pünktchen, die ziemlich gut wachsen und sich dabei mit einem schwarzen Hof von Schwefeleisen umgeben, der sich allmählich ausbreitet, so daß 4—5 Kolonien genügen, um die ganze Röhre zu schwärzen.

Die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß diese Kolonien durch kleine, kurze, lebhaft bewegliche Spirillen gebildet sind, welche mit den in den flüssigen Kulturen wahrgenommenen beweglichen Organismen (Phot. 4 u. 5) übereinstimmen. Durch Impfung dieser mit möglichster Sorgfalt isolierten Kolonien in die Reduktionsflüssigkeit wurde nach 2—3 Tagen eine deutliche H₂S-Bildung bewirkt, aber bei einer näheren Untersuchung stellte sich heraus, daß diese Kulturen alle mit einer anderen Bakterie infiziert waren. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit, auf Fleischwassergelatine ausgestrichen, lieferte immer eine Kultur einer Bakterienart, welche, wie schon oben in der Einleitung angegeben wurde, näher erkannt wurde als *Aërobacter coli* var. *infusionum*¹⁾. Die Reduktionsspirillen wachsen als Anaëroben unter diesen Bedingungen nicht.

1) Beijerinck, M. W., Schwefelwasserstoffbildung in den Stadtgräben und

Nachdem die Methode der negativen Koloniekultur, welche von Winogradsky bei der Isolierung seiner Nitrifikationsorganismen benutzte, sowie die Kultur in Wasserstoffatmosphäre, wahrscheinlich durch das Absterben der empfindlichen Organismen, keine befriedigenden Resultate gegeben hatte, kehrte ich zu der Züchtung in Reagenzröhren zurück. Weil die Sulfatspirillen nur anaërob wachsen, muß in der Kulturgelatine ein Mittel zur Sauerstoffentziehung anwesend sein, wie es in den Rohkulturen die Kolonien der beigemischten Bakterienarten sind, und es gelang mir auch ohne viel Mühe, von den schwarzen Kolonien ausgehend, durch Mischung einer unschädlichen *Torula*¹⁾-Art in die Gelatine reduzierende Kolonien zu bekommen, welche frei waren von *A. coli*, womit zwar der Beweis geliefert war, daß diese Art für die Sulfatreduktion nicht nötig ist, jedoch eine Reinkultur konnte natürlich auf diese Weise nicht gewonnen werden. Durch die Ersetzung der *Torula* durch ein chemisches Mittel wurde das aber möglich gemacht.

Bei allen Kulturen war es auffallend, daß eine große Zahl der ausgesäten Spirillen zu Grunde ging, welcher Umstand vielleicht seine Erklärung in ihrer großen Empfindlichkeit für die volle Sauerstoffspannung findet, welche im mikroskopischen Präparate deutlich zu sehen ist. Nur wo der Sauerstoffzutritt erschwert ist, behalten die Spirillen ihre Beweglichkeit längere Zeit, und wo der Sauerstoff frei zutreten kann, hört die Bewegung schnell auf, wenn nicht zugleich Schwefelwasserstoff zugegen ist. Wo jedoch einmal die Ruhe eingetreten ist, kann durch Schwefelwasserstoff die Beweglichkeit nicht wieder hergestellt werden, wahrscheinlich sterben die Spirillen schon nach kurzer Einwirkung der Luft ab.

Dieses Verhalten mußte natürlich bei der Anfertigung von Koloniekulturen in Rechnung gezogen werden, und zugleich zeigte sich der Schwefelwasserstoff, der schon durch Trenkman²⁾ für die Kultur der anaëroben Bakterien im allgemeinen empfohlen wurde, hier besonders geeignet für die Absorption des überflüssigen Sauerstoffes.

Die schwarzen Kolonien wurden nun verteilt in sterilem Wasser und eine Oese hiervon mit der Nährgelatine gemischt, aber zuvor wurde zu beiden auf 30 ccm etwa $\frac{1}{2}$ ccm Schwefelwasserstoffwasser zugefügt, wovon 1 ccm 16 ccm $\frac{1}{100}$ -Normal-Jodlösung titrierte. Die Erstarrung der Gelatine wurde beschleunigt durch Einstellung der Röhren in kaltes Wasser. Am folgenden Tage ist an der Schwefelabscheidung deutlich zu sehen, bis zu welcher Tiefe der Sauerstoff in die Gelatine hineindiffundiert ist; etwa $1\frac{1}{2}$ ccm unter der Oberfläche hört die Schwefelbildung auf, und eben unter dieser Grenze und niemals darüber entwickeln sich die Spirillenkolonien, in auffallendem Lichte sichtbar als kleine

Aufstellung der Gattung *Aërobacter*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 193.)

1) *Saccharomyces sphaeromyces*.

2) Das Wachstum der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. p. 1038.)

weiße und in durchfallendem Lichte als schwarze Pünktchen, die in dichteren Kulturen am größten werden in einer etwa 1 ccm hohen Schicht unter dem abgeschiedenen Schwefel.

Diese Kolonien erwiesen sich auch zum größten Teile noch mit *Coli* infiziert, aber nach einer wiederholten Kultur erhielt ich völlig reine Kolonien von *M. desulfuricans*.

Wenn diese Kulturen in Reagenzröhren nicht zu wenig Kolonien enthalten, werden diese am größten in einer etwa 1—2 ccm dicken Schicht unterhalb der unteren Schwefelgrenze, wodurch angezeigt wird, daß geringe Sauerstoffmengen für ihre Entwicklung günstig sind, aber zugleich beweist das plötzliche Aufhören ihres Wachstums, eben wo die Schwefelausscheidung beginnt, daß eine geringe Zunahme des Sauerstoffdruckes ihre Entwicklung verhindert. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die in der Schwefelwasserstoffgelatine gewachsenen Kolonien ihr eigentümliches Vorkommen dem abgeschiedenen Schwefel verdanken, der in kleineren und größeren Kugeln die ganze Kolonie anfüllt (Phot. 3).

Die Eigenschaft der Schwefelbildung durch die Oxydation des Schwefelwasserstoffes geht in den längere Zeit fortgezüchteten Kulturen verloren, ohne daß mir dieses Verhalten deutlich geworden ist. Diese Schwefelausscheidung betrachte ich jedoch als von genügendem Interesse, um sie besonders zu nennen, denn sie muß in der Natur eine sehr verbreitete Ursache für die Bildung von gediegenem Schwefel sein, und wahrscheinlich verdankt auch der sogenannte Moorbachs der Heiden Norddeutschlands¹⁾ dieser Bakterienwirkung seinen Schwefelgehalt.

Das Auffinden der reduzierenden Kolonien, die nur direkt erkennbar sind, als sie freien Schwefel gebildet haben, wurde wesentlich erleichtert durch die Zufügung von Natriumsulfit (bis $\frac{1}{20}$ Proz.) statt Schwefelwasserstoff zu der Kulturgelatine; hierin kann der Eisenindikator, welcher selbstverständlich nicht zugleich mit H_2S verwendbar ist, ohne Beschwerde zugesetzt werden, wodurch man sehr schöne Kulturen bekommen kann (Fig. 1 u. 2).

3. Sulfatreduktion mit Reinkulturen von *Microspira desulfuricans*.

Oben wurde bemerkt, daß die Impfung der schwarzen, mit *Coli* infizierten Spirillenkolonien in eine kleine, ganz mit ausgekochter Kulturflüssigkeit gefüllte Stöpselflasche immer eine Schwefelwasserstoff bildende Kultur gab, aber mit den reinen Kolonien gelingt dieser Versuch weniger leicht. Am sichersten erreicht man sein Ziel, wenn man die zu impfenden Kolonien in ein Stückchen Gelatine aus dem Kulturrohr hebt, dasselbe spaltet, um die Bakterien frei zu machen, und es dann ohne weitere Verteilung in die mit ausgekochter Flüssigkeit gefüllte Kulturflasche von 60—100 ccm Inhalt fallen läßt; wenn die Spirillen durch die ganze Kulturflüssigkeit verteilt werden, gehen sie oft alle zu Grunde. Zwei Tage oder oft schon 1 Tag nach der Impfung beginnt in der

1) Krämer u. Spilker, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXII. p. 2941.

Nähe der eingeführten Kolonie die Schwefelwasserstoffbildung, erkennbar an der Schwarzfärbung, die sich allmählich in den in dem Eisenphosphat enthaltenden Präzipitate auf dem Boden der Flasche und oft innerhalb 12 Stunden durch die ganze Flüssigkeit ausbreitet. Auch bei diesen Kulturen kann mit Vorteil ein wenig Natriumsulfit (bis $\frac{1}{20}$ Proz.) zugesetzt werden, welcher Körper ebenso wie Thiosulfate durch unsere Spirillen leicht unter Schwefelwasserstoffbildung reduziert wird. Die Reinheit der gewonnenen Kultur kontrollierte ich immer, wie schon beschrieben wurde, durch das Ausstreichen eines Tropfens auf einer Fleischwassergelatineplatte.

Wie die folgende Tabelle, die eine Auswahl der gemachten Versuche enthält, zeigt, war die mit den Reinkulturen erreichte Sulfatreduktion eine sehr kräftige:

Sulfatreduktion mit Reinkulturen von *M. desulfuricans*.

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	Milligr. pro Liter			Bemerkungen
			H ₂ S	SO ₂ gefun- den	zuge- setzt	
29. 13. Juni bis 7. Juli	Leitungswasser 200 K ₂ HPO ₄ 0,1 Asparagin 0,2 Na-Lactat 1,0 MgSO ₄ 7H ₂ O 0,4	25	229	540	650	Schwefelsäure beinahe ver- schwunden
30. 7. Juli bis 2. Aug.	Leitungswasser etc. wie No. 1	45	204	480	650	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
31. 2. Aug. bis 20. Sept.	Leitungswasser etc. wie No. 1	30	153	360	650	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
32. 25. Sept. bis 30. Okt.	Leitungswasser etc. wie No. 1	35	224	528	650	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
33. 7.—25. Nov.	Leitungswasser 200 K ₂ HPO ₄ 0,1 Asparagin 0,2 Na-Lactat 1,0 MgSO ₄ 7H ₂ O 1,0	18	238	560	1625	
34. 28. Nov. bis 18. Dez.	Leitungswasser 200 K ₂ HPO ₄ 0,1 Asparagin 1,0 MgSO ₄ 7H ₂ O 0,4	20	51	120	650	
35. 25. Nov. bis 18. Dez.	Leitungswasser 200 K ₂ HPO ₄ 0,1 Asparagin 0,2 Kaliumsuccinat 1,0 Gips 2,5	23	95	224	5756	Mehr Gips zuge- setzt als sich lösen kann
36. 25. Nov. bis 18. Dez.	Leitungswasser 200 K ₂ HPO ₄ 0,1 Asparagin 0,2 Kaliumcitrat 1,0 Gips 2,5	23	85	200	5756	

Es stellte sich heraus, daß die Reinkulturen von *M. desulfuricans* eine höhere Konzentration der organischen Stoffe leicht ertragen; so wurde z. B. in 2 Proz. Laktat eine sehr starke Schwefelwasserstoffbildung verursacht, und selbst in Fleischwasser, worin die Spirillen in Rohkulturen sofort durch Fäulnisbakterien verdrängt werden, fand kräftige Sulfatreduktion statt durch die Reinkulturen. Es schien interessant, das Verhalten dieser anaëroben Spirillen in einer feuchten Kammer¹⁾ zu untersuchen. Nur junge Kulturen, die nur gut bewegliche Individuen enthalten, eignen sich für diesen Versuch, wobei die Spirillen eine Ansammlung bilden auf etwa 2 mm vom Meniskus. Die Stellung der Atmungslinie zeigte sich jedoch abhängig von dem Zustande der verwendeten Kultur, besonders von deren Schwefelwasserstoffgehalt; je weniger Schwefelwasserstoff zugegen ist, je weiter stellt sich die Spirillennlinie nach innen, und oft zieht dieselbe sich langsam zurück und findet in einem etwa 2 mm breiten Rande am Meniskus eine Schwefelausscheidung statt, welche offenbar ihren Ursprung der direkten Oxydation der H_2S durch den Luftsauerstoff verdankt. Auf diese Tatsache will ich besonders hinweisen, weil es mir gelang, eine andere Bakterie zu isolieren, welche mikroskopisch sowie in ihren Kolonien *M. desulfuricans* gleicht, doch Sulfate nicht zu reduzieren vermag, die aber im Stande ist, aus Sulfiten oder Thiosulfaten Schwefelwasserstoff zu bilden und diesen Körper bei vermindertem Sauerstoffzutritt unter Schwefelabscheidung zu oxydieren. Bei ungehindertem Luftzutritt wächst dieser Organismus nicht, er bildet in Reagenzrohrkulturen mit $\frac{1}{20}$ Proz. Natriumsulfit oder Thiosulfat ein Niveau von maximalem Wachstum auf einige Entfernung von der Oberfläche und oxydiert dabei den in tieferen Schichten gebildeten Schwefelwasserstoff unter Abscheidung von Schwefel in sehr kleinen Tröpfchen und Kristallen. Von *Bact. hydrosulfureum ponticum* Zelinsky²⁾ unterscheidet diese Art sich dadurch, daß sie nicht aërob wächst.

• II. Sulfatreduktion in Seewasser.

1. Versuche mit Reinkulturen.

Schon in der Einleitung habe ich auf die sehr starke Schwefelwasserstoffbildung hingewiesen, die überall im Seewasser an unseren niederen Küsten vorkommt und die gleichfalls der Sulfatreduktion ihren Ursprung verdankt. Der größere Sulfatgehalt in Seewasser und in Brachwasser könnte für sich allein schon eine stärkere Schwefelwasserstoffentwicklung möglich machen, doch dazu kommt noch, wie wir sehen werden, die größere Aktivität der wirksamen Bakterienart.

Die Untersuchung wurde mit Seewasser auf vollkommen dieselbe Weise ausgeführt, wie bei den Süßwasserkulturen beschrieben

1) Beijerinck, M. W. u. A. van Delden, Ueber die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. Note auf p. 18.)

2) Proc. of the Russian Phys. and Chem. Soc. Vol. XXV. Fasc. 5. 1903. (Referat in Percy Frankland-Microorganisms in Water. 1894. p. 458.)

wurde, aber die Kulturflüssigkeit muß Kochsalz enthalten. Ich kultivierte hauptsächlich in

Leitungswasser	100
Kochsalz	3
K_2HPO_4	0,05
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,25 (oder mehr)
Natriumlaktat	0,5—1,0
Asparagin	0,1
Mohrs Salz	Spur

Wenn diese Nährstoffe in frischem Seewasser gelöst wurden und weiter keine Infektion stattfand, trat oft keine Sulfatreduktion ein, wahrscheinlich weil die reduzierenden Organismen in zu geringer Zahl oder gar nicht vorhanden waren. Die Schwefelwasserstoffbildung begann aber in den meisten Fällen, wenn mit ein wenig Seesand vom Strande von Scheveningen geimpft wurde und wenn der Kulturflüssigkeit ein wenig Natriumsulfit zugesetzt war. Nach einer Ueberimpfung ohne Sulfit wurde dann die gewünschte Rohkultur erhalten. Ausnahmslos gelang der Versuch auch ohne Sulfitzusatz, wenn mit ein wenig frischem, durch Schwefel-eisen tief schwarz gefärbten Seeschlamm geimpft wurde, genommen aus einem der bei Ebbe trocken laufenden Kanäle des Dollard aus einer Tiefe von etwa 10 cm.

Die folgende Tabelle, welche eine Uebersicht über eine Anzahl Versuche erlaubt, zeigt, welche große Mengen von Schwefelwasserstoff in diesen Kulturen gebildet werden können. So fand ich in einer mit Leitungswasser etc. hergestellten Kultur 1030 mg H_2S , übereinstimmend mit 2424 mg SO_3 per Liter, eine Zahl, die den mittleren Gehalt an SO_3 in Seewasser von 2100—2200 mg pro Liter¹⁾ übertrifft. Wenn die organische Nahrung hinreicht, kann also das Seewasser durch die Sulfatreduktion schwefelsäurefrei gemacht werden, was ich mit Seewasser aus der Nordsee, mit den nötigen Nährstoffen versehen, auch wirklich erreichen konnte.

Tabelle III.
Sulfatreduktion mit Rohkulturen von *M. aestuarii*.

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	Milligr. pro Liter			Bemerkungen
			H_2S	SO_3		
				gefun-	zuge-	
				den	setzt	
37. 31. Juli bis 27. Aug.	Seewasser (v. den Helder) 500 K_2HPO_4 0,25 Asparagin 0,5 Na-Laktat 2,5 Schlamm aus dem Dollard	27	843	1984	—	Schwefel-säure ver-schwunden.
38. 5. Aug. bis 27. Aug.	Seewasser 500 K_2HPO_4 0,25 Asparagin 0,5 Glukose 1,0 Schlamm aus dem Dollard	22	496	1168	—	Noch viel Schwefel-säure un-zersetzt.

1) Credner, Elemente der Geologie.

94 A. van Delden, Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien.

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	Milligr. pro Liter			Bemer- kungen	
			H ₂ S	SO ₂			
				gefun- den	zuge- setzt		
39. 2. Okt. bis 12. Nov.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Na-Laktat Asparagin MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15 0,25 2,5 0,5 4,—	41	850	2000	2600	Schwefel- säure nicht verschwun- den.
40. 2.—30. Okt.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15 0,25 0,5 2,5 4,—	28	714	1688	2600	Schwefel- säure nicht verschwun- den.
41. 16. Okt. bis 15. Nov.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15 0,25 0,5 2,5 4,—	30	775	1824	2600	Schwefel- säure nicht verschwun- den.
42. 16. Okt. bis 15. Dez.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15 0,25 0,5 4,—	60	680	1600	2600	Schwefel- säure nicht verschwun- den.
43. 7. Jan. bis 21. Febr.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15,— 0,25 0,5 5,— 4,—	44	1027	2416	2600	Schwefel- säure ver- schwunden.
44. 3. Dez. bis 21. Febr.	Leitungswasser K ₂ HPO ₄ Asparagin Gips	500 0,25 2,5 6,—	82	612	1440	—	
45. 21. Febr. bis 12. März	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15,— 0,25 0,25 5,0 4,—	19	1030	2424	2600	Schwefel- säure ver- schwunden.
46. 21. Febr. bis 12. März	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	500 15,— 0,25 1,25 2,5 4,—	19	952	2224	2600	Noch wenig Schwefel- säure un- zersetzt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

De l'influence de l'alimentation hydrocarbonée de la levure sur le rapport des gaz échangés.

Par **Melles E. Kollegorsky et O. Zassouchine** à St. Pétersbourg.

I. Précis historique.

Depuis longtemps la fermentation alcoolique a été l'objet de diverses recherches.

Les notions apportées par M. L. Pasteur qui a envisagé l'acte de la fermentation comme vie sans oxygène libre¹⁾ donnèrent naissance à toute une série de travaux dans lesquels les savants cherchaient à expliquer le rôle de l'oxygène dans les phénomènes de la fermentation.

Les résultats obtenus par ces expérimentateurs se contredisaient à cause de l'imperfection de la manière de diriger ces expériences et surtout parce qu'ils se servaient de cultures impures. Les adhérents de la théorie de M. Pasteur furent les plus nombreux.

M. Pedersen et M. Hansen ont prouvé par leurs expériences que la transformation du sucre en acide carbonique, alcool etc. est peu importante au contact de l'air²⁾. M. Hansen a remarqué que le mouvement produit dans le liquide nutritif sans aération même, agit sur l'intensité de la fermentation³⁾.

M. Giltay et M. Aberson ont constaté le même fait, c'est-à-dire que l'unité de la levure forme une plus grande quantité d'alcool dans un milieu privé d'oxygène que dans un milieu aéré, et que l'augmentation de volume d'alcool dans le dernier cas provient du mouvement produit dans la solution nutritive, mouvement favorable à l'alimentation de la levure⁴⁾. Tout autres furent les résultats obtenus par Mayer, qui démontra que la décomposition du sucre par la levure se produit avec une plus grande énergie au contact de l'air⁵⁾.

En répétant l'expérience de M. Mayer, M. Iwanowsky a aussi constaté que la fermentation alcoolique se manifeste quand les cultures sont aérées.

Les propres recherches de cet auteur lui firent conclure que l'introduction de l'oxygène n'influe pas sur le dédoublement du sucre par la levure⁶⁾ et que la fermentation est le résultat de la composition anormale du liquide nutritif. M. Ed. Buchner dans son dernier ouvrage envisage la fermentation au point de vue

1) Pasteur, L., Etudes sur la bière. 1876. p. 261—262.

2) Comptes rendus des trav. du labor. de Carlsberg. Copenhague. T. I. 1878. Livr. 1. p. 43.

3) C. r. des trav. du labor. de Carlsberg. 1879. Livr. 2. p. 93.

4) Giltay und Aberson, Ueber den Einfluß des Sauerstoffzutritts auf Alkohol und Kohlensäurebildung bei der alkoholischen Gärung. (Jahrbuch f. wissensch. Bot. 1894. p. 583.)

5) Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. 1874. p. 579.

6) Iwanowsky, Alkoholische Gärung. St. Petersburg 1894. p. 28. [Russisch.]

chimique¹⁾. Le phénomène de la décomposition du sucre s'accomplit d'après Ed. Buchner sous l'action de la zymase et toutes les conditions favorables à la multiplication de la levure et par conséquent à l'accumulation de la zymase sont des facteurs qui augmentent la fermentation.

Enfin Ms. Hans Buchner et Rudolph Rapp durant ces dernières années ont étudié l'influence de l'oxygène sur la fermentation alcoolique²⁾. Ils ont fait leurs expériences en se servant en grand de la méthode des „Rollkulturen“.

Les vases cylindriques dans lesquels ils avaient ensemencé la levure, avaient 5 litres de capacité. On versait sur le milieu solide 12 ccm de levure basse pure qui se répandaient également grâce au mouvement de rotation du cylindre autour de son axe.

Leurs expériences furent exécutées bien soigneusement afin d'éviter la moindre possibilité d'infection. Une partie des cultures étaient exposées constamment au contact de l'oxygène, les autres au contact d'un gaz neutre: l'hydrogène. Le volume de l'acide carbonique dégagé et d'alcool recueilli dans le premier cas a été plus considérable que dans le second cas.

Selon H. Buchner et R. Rapp l'oxygène n'influe pas directement sur la fermentation mais il est favorable à la multiplication de la levure et par conséquent à l'accumulation de la zymase.

II. Propres recherches.

Sur les conseils et sous la direction de M. le Professeur W. Palladine nous avons exécuté une série d'expériences pour expliquer l'influence de l'alimentation hydrocarbonée de la levure sur le rapport des gaz échangés.

Nous avons pris deux espèces de levure *Saccharomyces cerevisiae* I Hansen et *Schizosaccharomyces Pombe*.

Les aliments ternaires à étudier étaient cinq espèces de sucres: le glucose, le fructose, le maltose, le saccharose et le raffinose, plus deux alcools: la glycérine et le mannite.

Nous avons ajouté ces hydrates de carbone en proportion du quart³⁾ de la dissolution normale dans le liquide nutritif de Laurent, contenant:

PO ₄ K ₂ H	0,75 g·3 = 2,25 g	} par litre d'eau distillé
SO ₄ Mg	0,1 g·3 = 0,3 "	
Peptone	1 ‰.	

(Concentration des sels est triple.)

De cette manière nous avons obtenu des solutions isotoniques.

Nous nous sommes servis de la méthode des „Rollkulturen“, afin que les cultures soient mieux aérées. Il s'agit de verser dans

1) Buchner, Ed., Buchner, H. und Hahn, M., Die Zymasegärung. 1903.

2) Buchner, Hans und Rapp, Rudolph, Beziehungen des Sauerstoffs zur Gärtätigkeit der lebenden Hefezellen. (Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXVII. 1898. p. 82.)

3) Dans les tables le contenu des sucres est exprimé en ‰.

le tube à essai un peu de solution nutritive encore chaude additionnée de 13 % de gélatine; ensuite de tourner vite le tube autour de son axe sous un courant d'eau froide. La gélatine se répand également sur les parois du tube et se reploidit. On introduit alors avec un bâton de verre une goutte de levure pure,ensemencée d'abord dans un milieu liquide de même nature et on l'étend sur la couche de gélatine. De cette manière les cultures sont au contact de l'air.

Bien entendu, les solutions nutritives ainsi que les vases ont été stérilisés préalablement, le bâton en verre a été passé au feu, les inoculations ont été faites dans la chambre de stérilisation, lavée au sublimé corrosif. Dans la chambre quelques tubes ont été plongés au-dessus des bains de mercure, puis, pour préserver les cultures de l'influence nuisible des vapeurs de mercure, on a introduit dans ces tubes de l'eau bouillie distillée encore chaude. Les autres ont été fermés par des bouchons en caoutchouc et plongés au-dessus de l'eau distillée.

Pour préserver les cultures de l'influence de la lumière, elles ont été couvertes de percale noire. La température des expériences a été celle de la chambre, c'est-à-dire de 18° à 20° C.

C'est sur tout le contenu d'air d'un tube pris en une seule fois ou sur le contenu d'air retiré à plusieurs reprises d'un même tube que les analyses ont été faites.

Pour les analyses de l'air nous nous sommes servies de l'appareil de M. Polovtsoff¹⁾. Nous avons déterminé le contenu de CO₂, O₂ et N₂ en %, prenant la moyenne d'une série d'analyses de la même portion de gaz en limitant la différence du contenu à quelques centièmes % et celle du contenu de l'oxygène de 0,15 % à 0,2 %.

En considérant l'air pris d'abord comme normal (O₂ 20,96 %, N₂ 79,04 %) nous avons déterminé d'après le formule :

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = \frac{a}{2096_{q-b}}; q = \frac{c}{7904}$$

a) contenu de CO ₂ en %	} dans le volume mesuré
b) de O ₂	
c) de N ₂	
	de gaz

le rapport de l'acide carbonique dégagé à l'oxygène absorbé et d'après cela, nous avons pu juger si le phénomène de la fermentation avait eu lieu ou non. Préalablement nous avons calibré l'appareil, de temps à autre nous avons analysé l'air du laboratoire. Le contenu de chaque éprouvette dont l'air avait été déjà utilisé a été soumis à l'analyse microscopique pour s'assurer de l'état de pureté des cultures.

Les expériences exécutées par nous prouvent que le rapport $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ varie d'après les changements des solutions nutritives causés

1) Polovtsoff, Recherches sur la respiration des plantes. St. Pétersbourg 1901. [En russe.]

Zweite Abt. Bd. XI.

par les divers hydrates de carbone, additionnés au mélange de Laurent précité.

D'après tout ce que nous avons dit plus haut il est facile de juger que nous avons cherché à mettre les cultures dans des conditions identiques en ne changeant que l'alimentation ternaire.

D'après les expériences nous avons obtenu les résultats suivants:

1) Le rapport des gaz échangés par l'action respiratoire de la levureensemencée dans les milieux additionnés de glucose ou de fructose, sucres dont le poids moléculaire est $C_6H_{12}O_6$, ce rapport donc augmente d'abord puis diminue pour augmenter de nouveau insensiblement, mais en dépassant toujours l'unité (Exp. 1, 2, 3, 4).

2) Nous constatons le même fait en ajoutant le maltose au milieu nutritif, quoique le poids moléculaire de ce sucre soit plus complexe ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

Mais tout différents sont les résultats obtenus des culturesensemencées dans les solutions additionnées de saccharose, lequel est aussi une bisaccharide comme le maltose. Il est vrai, que le rapport augmente toujours, mais aux premiers stades du développement de la levure il est inférieur à l'unité.

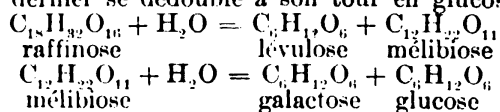
Mais la variation du rapport en cas d'alimentation de la levure par le maltose, ne dépend-elle pas de ce que ce dernier, malgré son poids moléculaire, est un sucre bien ordinaire pour *Saccharomyces cerevisiae*? (Exp. 5, 6).

3) Quant au rapport des gaz échangés par les cultures alimentées par le raffinose (mélitriose)¹⁾ avec le formule moléculaire $C_{18}H_{32}O_{16}$, ce rapport reste longtemps inférieur à l'unité, puis commence à augmenter. Malheureusement cette augmentation commence après l'entière absorption de l'oxygène. (Exp. 7, 8, 9.)

4) Quant aux solutions nutritives additionnées d'alcools, les cultures de *Saccharomyces cerevisiae* alimentées par la glycérine donnent un rapport supérieur à l'unité et celles de *Schizosaccharomyces Pombe* que nous avons prises pour comparaison, donnent le rapport $\frac{CO_2}{O_2}$ inférieur à l'unité. Il faut noter ici l'influence exercée par la manière de fermer les tubes à essai. Les analyses de l'air des tubes fermés par le mercure ont toujours donné un rapport $\frac{CO_2}{O_2}$, supérieur à l'unité, tandis que celui des analyses des tubes bouchés au caoutchouc n'a jamais dépassé l'unité. (Exp. 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19.)

L'influence exercée par la manière de fermer les tubes ne s'est pas manifestée quand nous avons employé les sucres comme matières alimentaires (ce qu'on peut voir dans les tables).

1) Le raffinose sous l'influence des acides étendus, s'en sépare du lévulose et du mélibiose; ce dernier se dédouble à son tour en glucose et galactose



La manière de fermer les tubes s'exprimait par le développement plus rapide des cultures ce qu'on pouvait distinguer à l'œil et constater par un plus grand volume d'acide carbonique dégagé par les cultures simultanées.

5) Le rapport des gaz échangés par les cultures alimentées par le mannite est resté toujours inférieur à l'unité, limité de 0,83 à 0,89.

Evidemment en ce cas le rapport $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ commence à augmenter après l'absorption par la levure de l'oxygène libre. Cette augmentation est causée par l'accumulation de l'acide carbonique dégagé. (Exp. 20, 21, 22, 23.)

6) Le rapport des gaz échangés par les culturesensemencées dans la solution nutritive privée d'hydrates de carbone est voisin de l'unité.

III. Description des expériences.

Expérience No. 1.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,5 % de glucose. La levure a étéensemencée le 25 novembre.

Analyses faites de diverses éprouvettes, fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
26/XI.	—	20,15 %	79,85 %	—
28/XI.	5,49 %	19 "	75,51 "	6,03
27/XI.	6,08 "	18,93 "	74,99 "	7,89
29/XI.	8,85 "	16,18 "	74,97 "	2,51
30/XI.	10,15 "	15,8 "	74,05 "	2,75
1/XII.	21,87 "	12,23 "	65,9 "	4,23
3/XII.	25,29 "	11,12 "	63,59 "	4,47

Expérience No. 2.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,5 % de glucose. La levure a étéensemencée le 25 novembre.

Analyses faites de la même éprouvette, fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
2/XII.	3,48 %	18 %	78,6 %	1,26
3/XII.	9,2 "	14,4 "	76,4 "	1,49
4/XII.	16,73 "	10,54 "	74,73 "	1,91

Expérience No. 3.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,5 % de fructose. La levure a étéensemencée le 20 janvier.

7*

Analyses faites de diverses éprouvettes fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	CO ₂ O ₂
30/I.	3,38 %	19,98 %	76,64 %	9,65
27/I.	4,08 „	19,28 „	76,64 „	3,88
29/I.	6,75 „	18,54 „	74,71 „	4,81

Analyses fait d'une éprouvette fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	CO ₂ O ₂
25/I.	8,23 %	16,96 %	74,81 %	3

Expérience No. 4.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,5 % de fructose. La levure a étéensemencée le 20 janvier.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	CO ₂ O ₂
26/I.	5,63 %	17,27 %	77,1 %	1,72
28 I.	10,45 „	15,05 „	74,5 „	2,24
30/I.	20,48 „	13,03 „	66,49 „	4,28

Expérience No. 5.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 8,55 % de maltose. La levure a étéensemencée le 21 février.

Analyses faites de diverses éprouvettes fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	CO ₂ O ₂
27/II.	24,94 %	1,45 %	73,6 %	1,38
27/II.	33,41 „	—	66,59 „	1,89
28/II.	34,52 „	—	65,48 „	2

Analyse faite d'une éprouvette fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	CO ₂ O ₂
26/II.	16,67 %	8,7 %	74,63 %	1,51

Expérience No. 6.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 8,55 % de saccharose. Le levure a étéensemencée le 7 décembre.

Analyses faites de diverses éprouvettes fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
14/XII.	—	19,81 %	80,19 %	—
15/XII.	0,46 %	20,29 „	79,25 „	0,68
19/XII.	0,66 „	20,25 „	79,09 „	0,92
17/XII.	1,69 „	19,95 „	78,36 „	2,11
18/XII.	2,27 „	19,6 „	78,13 „	2,41

Analyse faite d'une éprouvette fermée au bouchon. La levure a étéensemencée le 19 mars.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
22/IV.	35,29 %	6,59 %	58,12 %	4,04

Expérience No. 7.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 14,8 % de raffinose. La levure a étéensemencée le 21 mars.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
25/III.	3,37 %	17,44 %	79,19 %	0,95
31/III.	18,88 „	—	81,12 „	0,9
9/IV.	19,99 „	—	80,01 „	0,95

Expérience No. 8.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale additionnée de 14,8 % de raffinose. La levure a étéensemencée le 21 mars.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
26/III.	1,41 %	19,41 %	79,18 %	0,9
1/IV.	18,88 „	3,11 „	79,01 „	1,05
12/IV.	46,8 „	—	53,2 „	3,33

Expérience No. 9.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 14,8 % de raffinose. La levure a étéensemencée le 21 mars.

Analyses faites de diverses éprouvettes fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
19/IV.	19,16 %	—	80,84 %	0,91
20/IV.	19,99 „	—	80,01 „	0,95

Analyse faite d'une éprouvette fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
27/III.	6,67 %	13,73 %	79,6 %	0,92

Expérience No. 10.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 30 novembre.

Analyses faites de diverses éprouvettes, fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
14/XII.	3,25 %	19,2 %	77,55 %	2,42
12/XII.	4,69 „	18,44 „	76,87 „	2,79
9/XII.	5,51 „	18,36 „	76,13 „	3,55
13/XII.	7 „	18,05 „	74,45 „	4,24

Expérience No. 11.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 27 janvier.

Analyses faites de diverses éprouvettes, fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
12/II.	1,58 %	20,08 %	78,34 %	2,35
18/II.	1,71 „	19,71 „	78,58 „	1,64
21/II.	3,85 „	17,57 „	78,58 „	1,21
15/II.	4,11 „	19,36 „	76,53 „	4,23

Expérience No. 12.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 27 janvier.

Analyses faites de diverses éprouvettes fermées aux bouchons.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
8/II.	5,44 %	13,52 %	81,04 %	0,74
16/II.	6,33 „	13,78 „	79,89 „	0,88

Expérience No. 13

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 27 janvier.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
25/II.	3,71 %	18,88 %	77,41 %	2,23
3/III.	3,91 "	17,58 "	78,51 "	1,23
6/III.	3,83 "	16,48 "	79,69 "	1,13

Expérience No. 14.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 27 janvier.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
14/II.	2,38 %	18,76 %	78,86 %	1,19
17/II.	2,95 "	18,59 "	78,46 "	1,36
20/II.	3,25 "	18,28 "	78,47 "	1,31

Expérience No. 15.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 27 janvier.

Analyses faites de la même éprouvette, fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
10/II.	6,84 %	10,72 %	82,44 %	0,66
13/II.	7,09 "	9,96 "	82,95 "	0,64
19/II.	9,08 "	9,45 "	81,47 "	0,79

Expérience No. 16.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 27 janvier.

Analyse faite d'une éprouvette fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
3/II.	2,75 %	17,45 %	79,9 %	0,77

Analyse faite d'une autre éprouvette dans laquelle la levure a étéensemencée le 16 avril.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
21. IV.	8,02 %	11,18 %	80,8 %	0,82

Expérience No. 17.

Schizosaccharomyces Pombe.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 21 février.

Analyses faites de diverses éprouvettes, fermées aux bouchons.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
24. II.	10,49 %	9,88 %	79,63 %	0,94
4. III.	16,69 "	—	83,31 "	0,75
14. III.	18,38 "	—	81,62 "	0,85

Expérience No. 18.

Schizosaccharomyces Pombe.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 21 février.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
25. II.	11,38 %	7,25 %	81,37 %	0,83
3. III.	18,13 "	—	81,87 "	0,86
27. III.	18,3 "	—	81,7 "	0,87

Expérience No. 19.

Schizosaccharomyces Pombe.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 2,3 % de glycérine. La levure a étéensemencée le 21 février.

Analyses faites de la même éprouvette, fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
8. III.	17,9 %	—	82,1 %	0,85
11. III.	18,58 "	—	81,31 "	0,89
23. IV.	18,81 "	—	81,19 "	0,89

Expérience No. 20.

Saccharomyces cerevisiae I Hansen.

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,55 % de mannite. La levure a étéensemencée le 8 mars.

Analyses faites de diverses éprouvettes fermées au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
19. III.	17,78 %	0,21 %	82,01 %	0,83
23. III.	18,47 "	—	81,53 "	0,88
1. IV.	18,75 "	—	81,25 "	0,89

Expérience No. 21.**Saccharomyces cerevisiae I Hansen.**

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,55 % de mannite. La levure a étéensemencée le 8 mars.

Analyses faites de diverses éprouvettes fermées aux bouchons.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
13 III.	11,58 %	6,84 %	81,58 %	0,78
21 III.	13,74 „	—	87,21 „	0,59
23 III.	17,37 „	—	82,63 „	0,82

Expérience No. 22.**Saccharomyces cerevisiae I Hansen.**

Le solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,55 % de mannite. La levure a étéensemencée le 8 mars.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au bouchon.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
11 III.	3,22 %	17,33 %	79,45 %	0,88
13 III.	5,53 „	14,12 „	80,05 „	0,93
29 III.	18,74 „	—	81,26 „	0,89

Expérience No. 23.**Saccharomyces cerevisiae I Hansen.**

La solution nutritive fondamentale, additionnée de 4,55 % de mannite. La levure a étéensemencée le 8 mars.

Analyses faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
12 III.	10,71 %	9,85 %	79,44 %	0,96
14 III.	28,6 „	—	81,4 „	0,88

Expérience No. 24.**Saccharomyces cerevisiae I Hansen.**

La solution nutritive fondamentale privée de hydrates de carbone. La levure a étéensemencée le 22 janvier.

Analyses, faites de la même éprouvette fermée au mercure.

Date	CO ₂	O ₂	N ₂	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
29 I.	0,84 %	19,78 %	79,38 %	0,71
5 II.	3,65 „	15,25 „	81,1 „	0,63
7 II.	10,53 „	9,95 „	79,52 „	0,95

St. Pétersbourg, Laboratoire botanique de l'École supérieure féminine.

Nachdruck verboten.

Versuche mit heteröcischen Rostpilzen.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von W. Tranzschel.

Im Laufe des Sommers 1903 habe ich einige erfolgreiche Versuche mit heteröcischen Rostpilzen angestellt.

In einer Reihe von Versuchen gelang es durch Aussaat der Sporen von *Aecidium leucospermum* DC. (auf *Anemone nemorosa* L.) auf *Sorbus Aucuparia* L. die Uredosporen von *Ochropsora Sorbi* (Oud.) Diet. zu erzeugen.

Puccinia Polygoni amphibii Pers. (auf *Polyg. amphibium* L.) ergab das *Aecidium sanguinolentum* Lindr. auf *Geranium palustre* L. und *G. pratense* L. Die der *Pucc. Polygoni amphibii* Pers. entsprechende Micro-Art¹⁾ ist *Pucc. Morthieri* Körn.

Eine *Puccinia* auf *Carex limosa* L., welche im Jahre 1902 an einer Stelle eingesammelt wurde, wo *Aecidium Trientalis* Tranzsch. zahlreich vorkam, erzeugte das genannte *Aecidium* auf *Trientalis europaea* L., infizierte aber in 2 Versuchen nicht *Lysimachia vulgaris* L. Deshalb muß dieser Pilz von *Pucc. limosae* Magn. unterschieden werden. Ich nenne ihn *Pucc. Karelica* m.

Auf Grund der in den Jahren 1902 und 1903 gemachten Beobachtungen bin ich zu der Ueberzeugung gekommen, daß das *Aecidium coruscans* Fr. (auf *Picea*) im Zusammenhange steht mit einer bis jetzt übersehenen *Chrysomyxa*-Art auf *Ledum palustre* L. Ich nenne den Pilz *Chrysomyxa Woronini* m. Er unterscheidet sich von *Chr. Ledi* (Alb. et Schw.) De Bary scharf durch folgende Merkmale: Die Teleutosporenlager überziehen die Unterseite der im Frühjahr aus der Knospe hervortretenden Blätter, während bei *Chr. Ledi* De Bary sie auf den vorjährigen Blättern zu finden sind; das die Teleutosporen erzeugende Mycel ist perennierend und bildet Hexenbesen. *Chrysomyxa Woronini* m. wurde an mehreren Stellen in Lewaschowo (Gouv. St. Petersburg) und an zwei Stellen im Gouv. Wiborg bei Mustamäkki von mir gefunden. Auch aus Schweden habe ich den Pilz gesehen.

Botan. Museum d. k. Akademie der Wissenschaften, St. Petersburg.

1) Fischer, Ed., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Rostpilze. Bern 1898. p. 109.

Ein neuer kleiner Schüttelapparat für gärungsphysiologische Arbeiten.

[Aus dem gärungsphysiologischen Laboratorium der österreichischen Versuchsstation für Brauindustrie in Wien. Vorsteher: Dr. Heinrich Wichmann.]

Von Dr. **Heinrich Zikes.**

Mit 1 Figur.

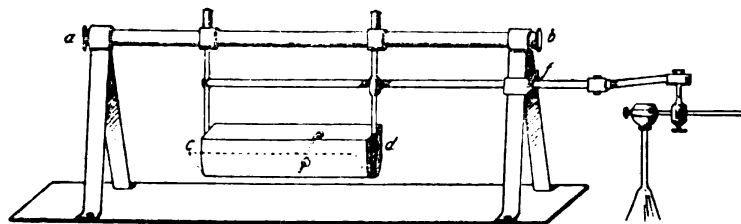
Bei den vorbereitenden Arbeiten zur Herstellung einer Hefeinkultur im Laboratorium handelt es sich in erster Linie um eine gründliche Verteilung der Hefezellen im Nährsubstrat. Das Verteilen geschieht durch kräftiges Schütteln der Ausgangshefe in sterilem Wasser, worauf die Hefeaufschlemmung in bestimmten Verhältnissen dem eigentlichen Nährboden, also bei dem Verfahren von Hansen der Würzegeleatine, bei der Lindnerschen Arbeitsmethode der Würze selbst zugesetzt wird.

Um das zeitraubende Schütteln mit der Hand zu umgehen, habe ich den abgebildeten kleinen Schüttelapparat konstruiert, welcher sich für die genannte Operation als sehr zweckmäßig erweist.

Der Apparat wird aber auch bei anderen Arbeiten willkommen sein, indem er z. B. bei der Darstellung konzentrierten Farbstoff- oder Salzlösungen, welche hier und da notwendig sind, mit Nutzen angewendet werden kann.

Derselbe besteht aus folgenden Teilen:

Auf einer Laufschiene (*a*, *b*) aus Stahl, welche von 2 versteiften Metallständern an den beiden Enden getragen wird, hängt an 2 kurzen in Oesen gleitenden Stangen aus Messing ein Trog (*c*, *d*), welcher die zu schüttelnden Gefäße aufnimmt. Diese Träger sind mit einer Schubstange organisch verbunden, welche in einer Führung an der einen Strebe (*f*) hin und her bewegt werden kann.



Die Schubstange selbst besitzt ein Gelenk mit einer Pleuelstange, welche die Bewegung irgend einer Turbine oder eines Elektromotors auf die Schubstange überträgt. Der Schütteltrog ist ein beiderseits geschlossener, oben offener Halbcylinder, welcher an der einen Längsseite aufklappbar ist.

Die Fixierung der Gefäße erfolgt durch eine Stahlfeder, welche einerseits an dem aufklappbaren Wandstück befestigt ist, andererseits durch eine Lochreihe das Niederklemmen verschieden großer Flaschen (10–150 ccm) gestattet.

Der Apparat funktioniert infolge der geringen Reibungswiderstände sehr präzise und nahezu geräuschlos.

Er wurde, um stabiler zu sein, auf ein Brett montiert, welches durch Zwingen an den Arbeitstisch befestigt werden kann.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß die Schwingungsamplitude durch eine mittelst Stellschraube ausführbare Veränderung des Kurbelradius an der Turbine variiert werden kann.

Der Apparat wird von der Firma W. J. Rohrbecks Nachf., Wien I, Kärntnerstr., verfertigt.

Referate.

Loew, O., Catalase, a new enzyme of general occurrence. (N. S. Departm. of Agricult. Rept. 68 Washington 1901.)

Im Saft der verschiedensten Pflanzen — Algen, Pilze, Moose, Farne, Phanerogamen — fand Verf. ein neues Enzym, das aus Wasserstoffsperoxyd Sauerstoff frei macht und vom Verf. als Katalase bezeichnet wird. Es findet sich in einer löslichen und einer unlöslichen Modifikation (α - und β -Katalase), die unlösliche ist anscheinend eine Verbindung der löslichen mit einem Nukleoproteid, die lösliche ist eine Albumose und kann durch sehr verdünnte Alkalien aus der unlöslichen Modifikation gewonnen werden. Katalase wird von Pilzen und Bakterien in ihr Nährsubstrat ausgeschieden.

Katalase gibt keine Blaufärbung der Guajaklösung, ist also nicht zu den oxydierenden Enzymen zu rechnen.

Die Funktion der Katalase im Pflanzenkörper ist noch wenig aufgeheilt; vielleicht dient sie dazu, das in den Zellen entstandene Wasserstoffsperoxyd zu zerlegen und für das Protoplasma unschädlich zu machen. Daneben sind vielleicht noch andere Wirkungen der Katalase (Aufspaltung von Stoffen in leicht oxydierbare Verbindungen u. s. w.) im Spiele. Küster (Halle a. S.).

Dangeard, P. A., Sur le nouveau genre Protascus. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 627.)

Auf Aelchen beobachtete Verf. einen bisher unbekannten Parasiten, der mit Myzocyttium vermicolum viele Ähnlichkeit hat.

Der erwachsene Thallus von Protascus tubuliformis n. sp. ist flaschenförmig; der flaschenhalsähnliche Teil ist lang und gebogen und tritt durch die Wand des Wirtes nach außen vor. Zur Zeit der Fortpflanzung teilt sich der Kern wiederholt; es finden sich in dem jugendlichen Sporangium 8, oft 16, seltener 32 Kerne. In gleicher Anzahl entstehen nunmehr die Sporen; sie sind langgestreckt, haben ein zugespitztes und ein dickes Ende und sind mit dem letzteren dem flaschenhalsartigen Teil des Sporangiums zugekehrt. Die Sporen werden alle auf einmal oder in mehreren Eruptionen hinweggeschleudert; sie keimen, wenn sie mit einem neuen Aelchen in Berührung kommen. In einem Wirt können oft bis 20 Parasiten sich aufhalten.

Ähnlich wie Protomyces und Taphridium nimmt der neue Pilz nach Verf. seine Stellung zwischen Phykomyeten und Askomyeten ein. Küster (Halle a. S.).

Nathansohn, A., Ueber eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. (Mitteil. aus der Zoolog. Station zu Neapel. Bd. XV. 1902, 4. Heft. p. 655.)

Bei seinen Versuchen, Beggiatoen in Reinkulturen zu züchten, sah Verf. in seinen Meerwasserschwefelkaliumkulturen kleine, lebhaft bewegliche Bakterien regelmäßig auftreten, die in bestimmten Beziehungen zu den Schwefelverbindungen zu stehen schienen. Bei näherer Prüfung erkannte Verf. in ihnen Schwefelbakterien besonderer Art, die sich von den bisher bekannten Formen dadurch unterschieden, daß der Schwefel bei ihnen niemals innerhalb der Zellen zur Ablagerung kommt.

Die eingehende Untersuchung des Stoffwechsels der Bakterien nahm Verf. hauptsächlich an Kulturen vor, deren Nährlösung Thiosulfat als einzige Schwefelverbindung enthielt; es ließ sich zeigen, daß Schwefelsäure und Tetrathionssäure als Atmungsprodukte der Bakterien entstehen. Der extracelluläre Schwefelniederschlag ist vielleicht auf die Reaktion zurückzuführen, die Verf. durch Zusatz von $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zu einer schwachen Lösung tetrathionsauren Natriums erhielt: es fällt Schwefel aus. Ob in der Natur die Bakterien lediglich Thiosulfat verarbeiten, oder ob sie auch direkt Sulfite oxydieren, muß vorläufig noch dahingestellt bleiben. Verf. macht darauf aufmerksam, daß diejenigen Organismen, die sich wie Beggiatoa nachweislich von H_2S ernähren, intracelluläre Schwefelkörnchen besitzen, die der neu entdeckten Gruppe, wie gesagt, fehlen.

Eine weitere Eigentümlichkeit der neu entdeckten Bakteriengruppe besteht darin, daß die Bakterien ihren Kohlenstoffbedarf aus der atmosphärischen Luft beziehen oder durch Verarbeitung der in Nährlösungen gebotenen Karbonate (Magnesiumkarbonat) decken können. Zusatz von Kohlehydraten (Traubenzucker u. s. w.) hemmt zwar die Entwicklung der Bakterien nicht, fördert sie aber auch nicht: in karbonatfreien, zuckerhaltigen Nährlösungen können bei Ausschluß der atmosphärischen Kohlensäure die Bakterien nicht gedeihen. Da selbst Traubenzucker von ihnen nicht veratmet werden kann, „so dürfen wir zum mindesten mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß diesen Bakterien die Tätigkeit, organische Substanzen in einer physiologisch irgendwie in Betracht kommenden Weise zu oxydieren, fehlt, und daß in der Tat hier eine anorganische Verbindung, das Thiosulfat, völlig die Rolle vertritt, die sonst den Kohlenstoffverbindungen im Atmungsstoffwechsel zukommt“. Den extracellulären Oxydationswirkungen, die Verf. mit Tetramethylparaphenylendiamin unter anderen nachweisen konnte, und die auch noch von bakterienfreien Filtraten der Kulturflüssigkeit ausgehen, dürfen kaum zu den „physiologisch in Betracht kommenden“ Oxydationen gehören. Verf. zeigt, daß sie nicht auf oxydierende Enzyme zurückzuführen sind, da sie nach Kochen der Kulturflüssigkeit nicht ausbleiben. Vielleicht handelt es sich um eine im Stoffwechsel der Bakterien accessorisch entstehende Perschwefelsäure.

In den Schlußbetrachtungen „zur Theorie des abbauenden Stoffwechsels“ kommt Verf. zu dem Resultat, daß in den Schwefel-

bakterien und ähnlichen Organismen die Oxydation der anorganischen Substanz wohl das einzige Glied des abbauenden Stoffwechsels darstellt. Für die Annahme eines „physiologischen“ Zerfalles der Eiweißkörper bei höheren wie niederen Pflanzen liegen bisher keine ausreichenden Argumente vor.

Küster (Halle a. S.).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoen. Bearb. u. hrsg. v. P. v. Baumgarten u. F. Tangl. Jg. XVII. 1901. 2. (Schluß-) Abt. XII, p. 561—1114. Leipzig (Hirzel) 1903. 8°. 16 M.

Lindner, P., Aus den Verhandlungen der Sektion VI, „Gärungsgewerbe und Stärkefabrikation“, des V. internationalen Kongresses für angewandte Chemie in Berlin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 22/23. p. 740—743.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bluntschli, H., Einige Neuerungen am R. Jungschen Studentenmikrotom. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Techn. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 1—7. 2 Fig.)

von Friedländer, Friedrich, Eine Modifikation des Pantographen (Storchschnabel) zum Zeichnen mikroskopischer Präparate. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 12—14. 1 Fig.)

de Groot, G., Eisen-Carmalaun. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 21—23.)

Hinterberger, A., Thermophore für Färbezwecke. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 14—16. 1 Fig.)

Hoffmann, W., Ueber die Wirkung der Radiumstrahlen auf Bakterien. (Hyg. Rundsch. Jg. XIII. 1903. N. 18. p. 913—917.)

Krefft, P., Rotationsmikrotom „Herzberge“. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikr. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 7—11. 2 Fig.)

Markl, Ein einfacher Apparat zur Wasseruntersuchung. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. VII. 1903. Heft 9. p. 434—436.)

Meyer, Arthur, Naphtolblau als Reagenz auf Bakterienfett. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 6. p. 578—579.)

Müller, Fritz, Eine Verbesserung des Aubertinschen Verfahrens zum Aufkleben von Celloidinschnitten. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XIV. 1903. N. 16/17. p. 671—673.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Aderhold, Rud., Impfversuche mit *Nectria ditissima* Tul. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 24/25. p. 763—766.)

Bode, G., „Kochende“ Gärung. (Wehnsehr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 36. p. 401.)

Bonska, F. W., Studien über den Antagonismus zwischen Milchsäurefermenten und Bakterien der Gruppe des *Bacillus subtilis*. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XVII. 1903. Heft 6. p. 349—357.)

Burri, B., Die Bakterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 24/25. p. 756—763.)

v. Freudenreich, Ed., Ueber stickstoffbindende Bakterien. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XVII. 1903. Heft 6. p. 358—364.)

Ghon, Anton und **Sachs, Milan**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. II. Zur Aetiologie des Gasbrandes. [Erster Teil. Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 6. p. 481—488.)

- Grassberger, E.**, Ueber Buttersäuregärung. 3. Abh. A. Morphologie des Rauschbrandbacillus und des Oedembacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1903. Heft 1. p. 1—76. 11 Taf.)
- Guiraud, D.**, Le traitement de l'oïdium. (La revue vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 64. p. 256.)
- Hennings, P.**, Einige Beobachtungen über das Gesunde pilzkranker Pflanzen bei veränderten Kulturverhältnissen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 1. p. 41—45.)
- Jordi, Ernst**, Kulturversuche mit Papilionaceen bewohnenden Rostpilzen. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 24 25. p. 777—779.)
- Jungner, J. R.**, Fritfliege und Stockälchen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 1. p. 45—46.)
- Keller, C.**, Beobachtungen über die Lebensweise des Arven-Borkenkäfers (*Tornicus Cembrae* Heer). (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jg. I. 1903. Heft 9. p. 337—342. 3 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

- Brouardel, Pr.**, Les antiseptiques dans les matières alimentaires. Extrait d'une conférence fait au XIV. congrès de médecine en 1903 à Madrid. (Rev. internat. des falsifications. Année XVI. 1903. Livr. 4. p. 99—101.)

Luft, Wasser, Boden.

- Calmette, A.**, L'épuration biologique des eaux d'égout à Manchester. (Rev. d'hygiène. T. XXV. 1903. N. 8. p. 703—716.)
- Haack, R.**, Das neue Leitungswasser der Stadt Berlin in chemischer und bakteriologischer Beziehung. (Ber. d. dtshn. pharmazeut. Ges. Jg. XIII. 1903. Heft 5. p. 154—174.)
- Malato-Calvino, V. E.**, Origine e distribuzione dei germi patogeni nelle acque del porto di Cagliari. (Ann. d'igiene sper. Vol. XIII. 1903. Fasc. 3. p. 344—366.)
- de Montricher, H.**, Epuration des eaux. (Compt. rend. assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. Montauban 1902. Partie 2. Paris 1903. p. 1240—1245.)
- Obermaier, Gust.**, Ueber die Trinkwasserdesinfektion mit Jod nach Vaillard. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 6. p. 592—594.)

Fleisch.

- Casagrandi, O.**, Ricerche sulla carne frolla dal punto di vista batteriologica e chimico. (Ann. d'igiene sper. Vol. XIII. 1903. Fasc. 3. p. 480—497. 3 Fig.)
- Meyer, Werner**, Ueber den Nachweis von schwefliger Säure und schwefligsauren Salzen im Fleisch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIII. 1903. Heft 12. p. 388—389.)
- Ostertag**, Zur Ausführung des Fleischbeschaugesetzes. (Antworten auf Anfragen.) [Forts.] (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIII. 1903. Heft 12. p. 380—381.)

Milch, Molkerei.

- Sidler, Franz**, Untersuchungen über die gebräuchlichsten, in der Schweiz fabrikmäßig hergestellten Milchpräparate — pasteurisierte, sog. sterilisierte und kondensierte Milch — mit besonderer Berücksichtigung der chemischen Zusammensetzung, des Keimgehaltes, der Gerinnungsfähigkeit und die Verdaulichkeit „in vitro“. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVII. 1903. Heft 4. p. 327—410.)
- Smith, Bernard H.**, Dosage de la formaldéhyde dans le lait. (Rev. internat. des falsifications. Année XVI. 1903. Livr. 4. p. 98—99.)
- Tissier, Henry et Gasching, Pascal**, Recherches sur la fermentation du lait. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 8. p. 540—563.)

Bier, Brauerei.

- Barth, Gg. und Dinklage, K.**, Studien über den Darrprozeß. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 37. p. 601—606.)
- Kleins, O.**, Blasengärung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 35. p. 398.)
- Nathan, L.**, Ueber Mittel zur Beschleunigung der Biergärung und der Reifung des Bieres. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 35. p. 395—398.)

Wein, Weinbereitung.

- Behrens, J.**, Ueber einen Einfluß des Stickstoffgehaltes im Moste auf Gärung und Zusammensetzung des Weines. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 35. p. 412.)
- Canu, G.**, Le mutage des mouts. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 63. p. 251—252.)
- , Le mutage des mouts et leur revivification. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 65. p. 260.)
- Delle, Ed.**, La fermentation. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 71. p. 283.)
- Desmoulins, A. M.**, La vinification dans les pays chauds. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 62. p. 247—248.)
- Geheimmittel bei der Weinbereitung. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 35. p. 350.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Bertarelli, E.**, Applicazione del metodo biologica alla ricerca ed alla diagnosi delle leguminose con speciale riguardo alla ricerca della vecchia. (Riv. d'igiene e sanità pubbl. Anno XIV. 1903. N. 16. p. 643—657.)
- , Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. Experimentelle Studien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 1. p. 8—13.)
- v. Csadek, O.**, Feigenkaffee-Untersuchungen. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VI. 1903. Heft 8. p. 641—646.)
- di Donna, A.**, Ricerche sulla presenza del b. coli nelle farine di mais e sulla sua virulenza. (Ann. d'igiene sper. Vol. XIII. 1903. Fasc. 3. p. 381—383.)
- Palattino-Blandini, A.**, Osservazioni sull'alimentazione maidica sperimentale. (Ann. d'igiene sper. Vol. XIII. 1903. Fasc. 3. p. 412—446. 2 Taf.)
- Plehn, Butter**, ihre Bereitung, ihr Wesen, ihre Ersatzmittel und deren Gebrauchswert. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 33. p. 513—515; N. 34. p. 534—535; N. 35. p. 548—549.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Kausch, Oskar**, Desinfektion- und Konservierungsmittel. Zusammenfassende Uebersicht. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. 1903. N. 21. p. 641—662.)
- , Verfahren und Apparate zur Desinfektion bzw. Sterilisation von Abfällen. Zusammenfassende Uebersicht. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. 1903. N. 22. p. 689—700. 5 Fig.)
- Parow**, Versuche über die Reinigung der Abwässer von Tempelhof bei Berlin durch das biologische Verfahren. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 38. p. 430.)
- Wagener, Oskar**, Zur Hygiene des Fußbodens. (Hyg. Rundsch. Jg. XIII. 1903. N. 18. p. 917—924.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- van Delden, A.**, Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien, p. 81.
- Kollegorsky, E. et Zassouchine, O.**, De l'influence de l'alimentation hydrocarbonée de la levure sur le rapport des gaz échangés, p. 95.
- Tranzschel, W.**, Versuche mit heterotischen Rostpilzen, p. 106.
- Zikes, Heinrich**, Ein neuer kleiner

Schüttelapparat für gärungsphysiologische Arbeiten, p. 107.

Referate.

- Dangeard, P. A.**, Sur le nouveau genre Protascus, p. 108.
- Loew, O.**, Catalase, a new enzym of general occurrence, p. 108.
- Nathansohn, A.**, Ueber eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel, p. 109.

Neue Litteratur, p. 110.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U.S.A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XI. Band.

Jena, den 11. November 1903.

No. 4/5.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

*Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die
Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung
der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.*

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch
Bakterien.**

Von **A. van Delden,**

Assistent am Bakteriologischen Laboratorium der Polytechnischen Hochschule
in Delft.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Das Äußere der Seewasserkulturen erinnert genau an die in
süßem Wasser; erstere sind gewöhnlich noch ärmer an Bakterien,

Zweite Abt. Bd. XI.

8

so daß oft in Flüssigkeiten, worin noch Reduktion stattfindet, mit dem Mikroskope gar keine Bakterien zu finden sind. In jungen Kulturen fand ich immer einen *Micrococcus* und weiter noch ein kleines, sehr schnell bewegliches *Spirillum*, meist etwas kürzer, doch übrigens *M. desulfuricans* täuschend ähnlich. Diesem Organismus, den ich als die Ursache der Sulfatreduktion erkannte, werde ich weiterhin, wie schon in der Einleitung bemerkt wurde, als *Microspira aestuarii* bezeichnen.

2. Isolierung von *Microspira aestuarii*.

Was in einem vorigen Abschnitte über die Isolierung von *M. desulfuricans* gesagt wurde, könnte ich mit Beziehung auf die Isolierung von *M. aestuarii* beinahe wörtlich wiederholen, selbst die Beschreibung der Kolonien, und darum werde ich hier nur diejenigen Punkte erwähnen, welche für die beiden Spirillen verschieden sind, und weiter auf Abschnitt I verweisen.

Ich kultivierte hierbei in:

Leitungswasser	100
Gelatine	10
Kochsalz	3
K ₂ HPO ₄	0,05
MgSO ₄ 7 H ₂ O	0,25
Asparagin	0,1
Natriumlaktat	0,5
Mohrs Salz	Spur

In den Fällen, worin ich einen anderen Organismus in die Gelatine mischen wollte, konnte ich nicht die *Torula*-Art benutzen, doch statt deren zeigte sich der oben genannte *Micrococcus* sehr geeignet. Diese Art wuchs üppig auf verschiedenen Nährböden, doch wurde sie nicht weiter untersucht, nachdem ich festgestellt hatte, daß sie mit der Sulfatreduktion nichts zu tun hatte, und weil sie durch die Anwendung der H₂S-Methode entbehrt werden konnte. Merkwürdigerweise verursachte sie mir dieselbe Mühe, die ich bei der Isolierung von *M. desulfuricans* hinsichtlich *Aërob. coli* gehabt hatte; in einigen Kulturen sah ich die schwarze Spirillenkolonien sich bilden in oder in der unmittelbaren Nähe der bereits 1/8 mm großen Mikrokokkenkolonien. Die Schwefelwasserstoffmethode lieferte aber auch hier reine Kolonien von *M. aestuarii*, welche unter den bei *M. desulfuricans* näher angegebenen Vorsichtsmaßregeln in Flüssigkeiten kräftig reduzierende Kulturen gaben. Die Reinheit der Kulturen wurde hier in übereinstimmender Weise kontrolliert, als bei *M. desulfuricans* durch das Ausstreichen eines Tropfens der Kulturflüssigkeit auf Fleisch oder Fischbouillongelatine mit 3 Proz. Kochsalz, worauf sich keine Kolonien entwickeln, wenn die Kultur rein ist.

3. Sulfatreduktion mit Reinkulturen von *M. aestuarii*.

Die Kulturen dieses Organismus in Flüssigkeiten verursachte mir keine Schwierigkeiten, nachdem ich bei der Untersuchung des

M. desulfuricans die Bedingungen kennen gelernt hatte, welche dabei eingehalten werden müssen. Die Reduktion des Sulfates beginnt gewöhnlich schon einen Tag nach der Impfung, und in jungen Kulturen sind die Spirillen gut beweglich und kaum von der korrespondierenden Süßwasserform zu unterscheiden. Wie die folgende Tabelle, die keiner weiteren Erläuterungen bedarf, zeigt, war die Schwefelwasserstoffbildung in den Reinkulturen von *M. aestuarii* eine sehr starke; als Maximum fand ich einen H_2S -Gehalt von 0,52 mg, übereinstimmend mit 2240 mg SO_3 , pro Liter

Sulfatreduktion mit Reinkulturen von *M. aestuarii*.

Nummer und Zeit	Kulturflüssigkeit	Tage	Milligr. pro Liter			Bemerkungen	
			H ₂ S	SO ₃			
				gefun- den	zuge- setzt		
47. 13. Juni bis 7. Juli	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	200 6 0,1 0,2 1,0 1,6	24	892	2100	2600	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
48. 13. Juni bis 7. Juli	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	200 6 0,1 0,2 1,0 1,6	24	858	2020	2600	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
49. 14. Juni bis 7. Juli	Leitungswasser etc. wie No. 2	200	23	952	2240	2600	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
50. 7. Juli bis 21. Aug.	Leitungswasser etc. wie No. 2	200	44	816	1920	2600	Schwefelsäure nicht ver- schwunden
51. 21. Aug. bis 20. Sept.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Kaliumsuccinat MgSO ₄ 7H ₂ O	200 6 0,1 0,2 1,0 1,6	30	476	1120	2600	Noch viel Schwe- felsäure unzer- setzt
52. 25. Sept. bis 30. Okt.	Leitungswasser NaCl K ₂ HPO ₄ Asparagin Na-Laktat MgSO ₄ 7H ₂ O	200 15 0,1 0,2 1,0 1,6	35	646	1520	2600	Noch viel Schwe- felsäure unzer- setzt

Eine höhere Konzentration wurde auch von den Seewasserspirillen leicht ertragen, 2 Proz. Na-Laktat gab eine sehr starke Reduktion und auch in Fischbouillon mit 3 Proz. Kochsalz, das für die Rohkulturen nicht geeignet ist, weil darin die Sulfatspirillen sogleich überwuchert werden durch andere Arten, erhielt ich mit den Reinkulturen eine kräftige Sulfatreduktion.

4. Das Verhalten der sulfatreduzierenden Spirillen gegen Kochsalz.

Die Uebereinstimmung, die *M. desulfuricans* und *M. aestuarii* in ihren Eigenschaften zeigen, gab mir Veranlassung zu der Frage, ob hier wirklich 2 verschiedene Arten vorliegen oder vielmehr 2 Varietäten derselben Art, welche durch Aenderung des Kochsalzgehaltes der Kulturflüssigkeit ineinander übergehen könnten.

Schon bei den Rohkulturen stellte sich heraus, daß eine plötzliche Aenderung des Kochsalzgehaltes von 0 auf 3 Proz. für *M. desulfuricans* und von 3 Proz. auf 0 für *M. aestuarii* in beiden Fällen den Untergang dieser Organismen zur Folge hatte, daß aber ein Kochsalzgehalt von $1\frac{1}{2}$ Proz. durch beide gut vertragen wurde. Durch Versuche mit Reinkulturen wurde dieses Resultat bestätigt, und weil mir die Kochsalzfrage auch aus praktischen Gründen interessant vorkam, habe ich diesen Versuch etwas erweitert.

Einige der dabei gefundenen Zahlen, die sich auf Kulturen der Laktat-Asparagin-Flüssigkeit mit $\frac{1}{4}$ Proz. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mit variierendem Kochsalzgehalt beziehen, will ich hier anführen. Das für die Impfung verwendete Material stammte für beide Spirillen aus einer Kultur mit $1\frac{1}{2}$ Proz. Chlornatrium.

<i>M. desulfuricans</i>	NaCl in Proz.	0	$\frac{1}{2}$	1	$1\frac{1}{2}$	2	$2\frac{1}{2}$	3
	Red. SO_3 mgr pro Liter	532	500	528	532	320	80	0
<i>M. aestuarii</i>	NaCl in Proz.	0	$\frac{1}{2}$	1	$1\frac{1}{2}$	2	$2\frac{1}{2}$	3
	Red. SO_3 mgr pro Liter	0	240	1000	1200	1140	1108	1280

Die Wirkung der Kochsalzkonzentration zeigt sich also für unsere beiden Spirillen so verschieden, daß ich sie vorläufig als 2 verschiedene Arten betrachten muß, obgleich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen scheint, daß bei einer sehr langsamen Aenderung des Kochsalzgehaltes der Kulturflüssigkeit der Unterschied sich weniger deutlich zeigen sollte. Dem gegenüber steht aber, daß ich, was auch in geologischer Hinsicht interessant ist, noch in einer Kulturflüssigkeit mit 10 Proz. eine schwache, aber deutliche Sulfatreduktion durch *M. aestuarii* wahrnahm; 6 Proz. Kochsalz zeigte sich in den Rohkulturen mehr schädlich als in den Reinkulturen, welche mit 6 Proz. NaCl noch 612 mg H_2S , korrespondierend mit 1440 mg reduzierte SO_3 pro Liter bildeten; mit 8 Proz. NaCl sank die H_2S -Bildung auf 255 mg und mit 10 Proz. NaCl auf 85 mg pro Liter. Weiter geht noch aus diesen Versuchen mit Kochsalz hervor, daß *M. desulfuricans* und *M. aestuarii* sich beide in Brachwässern, die wenigstens $\frac{1}{2}$ Proz. NaCl enthalten, entwickeln können, welcher Umstand die Zunahme der Schwefelwasserstoffentwicklung, die öfters wahrgenommen wurde, als Seewasser in die inneren Kanäle gelassen war (R. H. Saltet, Ueber Reduktion von Sulfaten in Brackwasser durch Bakterien. — Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900. p. 648), erklären könnte. Jedoch darf man nicht übersehen, daß der Zufluß von Seewasser, auch ohne die Mitwirkung von *M. aestuarii*, eine Verstärkung der Sulfatreduktion zur Folge haben kann, nicht durch die Wirkung des Kochsalzes, sondern durch die gleichzeitige Zu-

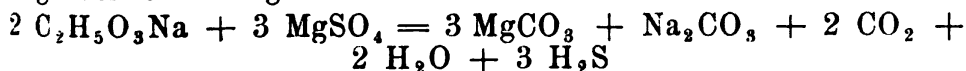
führung von Sulfaten, denn wir haben oben schon bemerkt, daß die stark verunreinigten Wässer unserer Stadtgräben bisweilen sulfatfrei sind.

III. Sulfatreduktion und organische Stoffe.

Schon bei der Besprechung der Rohkulturen habe ich bemerkt und auch im Anfang dieser Untersuchungen bewiesen (Versuche 13–17), daß die Sulfatreduktion durch Bakterien nur möglich ist, wenn diese über eine geeignete Nahrung verfügen können, weil die Verbrennung dieser Nahrung die für die Spaltung der Schwefelsäure nötige Energie liefern muß.

Um dieses Verhalten in quantitativer Hinsicht etwas näher kennen zu lernen, bestimmte ich in einzelnen Kulturen nicht nur den Schwefelwasserstoff, sondern auch die in derselben Zeit gebildete Kohlensäure, denn es ist klar, daß diese beiden Körper bei der Sulfatreduktion in einem bestimmten Verhältnisse entstehen müssen, abhängig von der Natur der oxydierten organischen Stoffe. Zuerst titrierte ich den Schwefelwasserstoff auf gewöhnliche Weise mit $\frac{1}{100}$ Normaljodlösung und präzipitierte dann in einem anderen Teil derselben Flüssigkeit sämtliche Kohlensäure mit Chlorcalcium unter Zusetzung von ein wenig CO_2 freien Ammoniak, um die Reaktion schwach alkalisch zu machen, filtrierte das Präzipitat ab, und bestimmte darin die Kohlensäure durch Lösung in einem Uebermaß $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure und Titration dieses Uebermaßes nach 10 Minuten Kochen mit $\frac{1}{10}$ -Normallauge. Diese Manipulation wurde in derselben Weise ausgeführt mit der ungeimpften Kulturflüssigkeit. Die Vermehrung der Kohlensäure konnte nur ihren Ursprung haben in der Oxydation der organischen Nahrung mittels des Sauerstoffes des Sulfates, denn der Sauerstoffzutritt von außen, sowie das Entweichen von Schwefelwasserstoff wurde vermieden durch die Kulturvornahme in Flaschen mit sehr sorgfältig eingeschliffenen Stöpseln, welche mittels Kupferdraht festgeklemmt und paraffiniert wurden.

In einer Flüssigkeit, welche keine andere organische Nahrung enthält als Natriumlaktat, müßte die Umsetzung ungefähr nach folgender Gleichung verlaufen:



wobei auf je 2 Molekeln H_2S auch 2 Molekeln CO_2 gebildet werden.

In einer Kultur von *M. aestuarii* in

Leitungswasser	100
NaCl	3
K_2HPO_4	0,05
NH_4Cl	0,1
Natriumlaktat	1,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	

die am 2. Febr. infiziert und am 20. Febr. analysiert wurde, fand ich in 10 ccm Flüssigkeit einen Verbrauch von 20,4 ccm $\frac{1}{100}$ -Normaljodlösung, übereinstimmend mit einem H_2S -Gehalt von 346,8 mg

pro Liter. In 40 ccm derselben Flüssigkeit fand ich eine Quantität Kohlensäure, welche 15,9 ccm oder $\frac{10}{3} \times 15,9 = 53$ ccm Zehntelnormalschwefelsäure pro Liter entsprach. Eine zweite Bestimmung, welche 15,9 ccm Zehntelnormalschwefelsäure gab, zeigte, daß die Genauigkeit der verwendeten Methode eine genügende war. In derselben Flüssigkeit fand ich vor der Impfung mit *M. aestuarii* eine Quantität Kohlensäure, welche 8,1 ccm Normalsäure pro Liter entsprach, also $53 - 8,1 = 44,9$ ccm weniger als in der analysierten Kultur. Die Bakterien hatten also $44,9 \times 22 = 987,8$ mg CO_2 gebildet. Nach der oben aufgestellten Gleichung müßte auf 2 Mol. CO_2 ein Mol. H_2S gefunden werden, also auf 987,8 mg CO_2 $\frac{987,8}{44} \times \frac{1}{2} \times 34 = 381,6$ mg H_2S , anstatt der wirklich gefundenen 346,8 mg. Wenn man hierbei Rücksicht nimmt auf die Versuchsfehler und bedenkt, daß diese Zahlen per Liter angegeben sind und demzufolge mit einem ziemlich großen Faktor multipliziert wurden, dann mag die Uebereinstimmung eine genügende genannt werden, um die Darstellung des Chemismus der Sulfatreduktion durch obige Gleichung zu erlauben. Hierbei wurde die organische Substanz, welche die Bakterien verbrauchen, für den Aufbau ihrer eigenen Körper nicht berücksichtigt, aber weil die Flüssigkeit arm an Bakterienmaterial ist, kann der hierdurch verursachte Fehler nur sehr klein sein.

In einem zweiten Falle fand ich auf vollkommen dieselbe Weise 504 statt die berechneten 576 mg H_2S , übereinstimmend mit 1120 statt 1344 mg HO_3 pro Liter, welche Zahlen zugleich zeigen, daß die Schwefelsäure nur zum Teil reduziert war, denn ich hatte 2600 mg SO_3 pro Liter zugesetzt. Auch habe ich Kulturen von *M. desulfuricans* analysiert, und fand folgende Zahlen:

Erstens kultivierte ich in

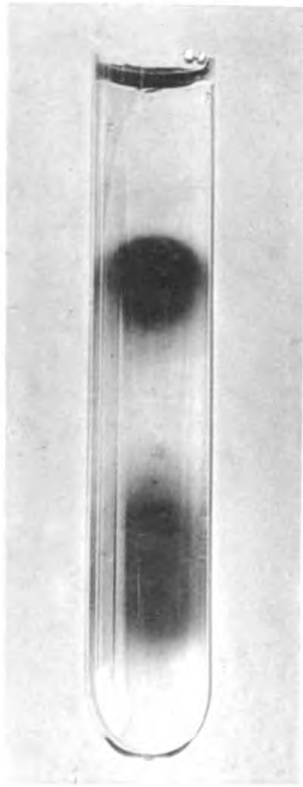
Leitungswasser	200
K_2HPO_4	0,05
NH_4Cl	0,05
Natriumlaktat	0,5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 vom 14.—26. Febr.

und fand:

10 ccm Flüssigk. H_2S = 6,5 ccm $\frac{1}{100}$ N.-Jodl.	100 ccm Flüssigk. CO_2 = 19,7 $\frac{1}{10}$ N.- H_2SO_4
1 l Flüssigk. = $6,5 \times 17 = 110,5$ mg H_2S	1 l " = 17,9 ccm N.- H_2SO_4
	1 l nicht infizierte Flüssigk. = 6,9 ccm N.- H_2SO_4
	Zunahme an CO_2 = 12,8 ccm N.-Säure
	oder $12,8 \times 22 = 281,6$ mg CO_2 p. L.

was übereinstimmt mit $\frac{281}{44} \times \frac{1}{2} \times 34 = 108,8$ mg H_2S pro Liter und mit der wirklich gefundenen Zahl (110,5 mg H_2S) einen so kleinen Unterschied macht, durch den vielleicht die Versuchsfehler einander hierbei eben ausgeglichen haben.

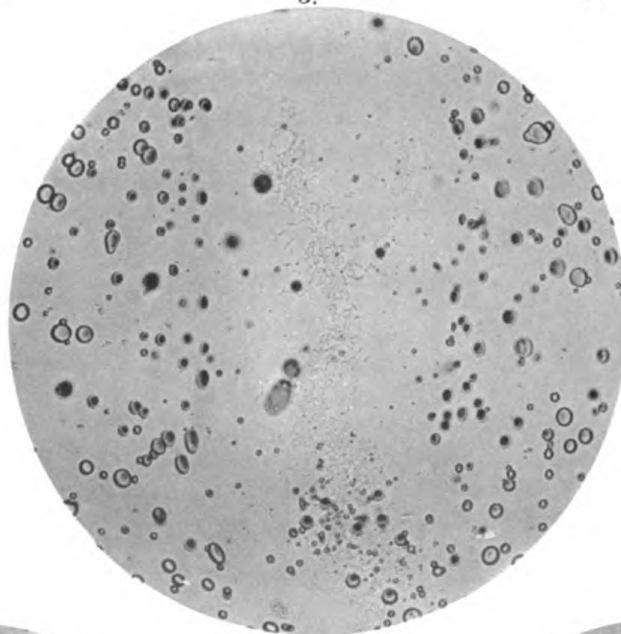
Zweitens wurde eine Kultur analysiert, welche statt Na-Laktat Kaliummalat als Kohlenstoffnahrung erhalten hatte, ohne weitere



1.



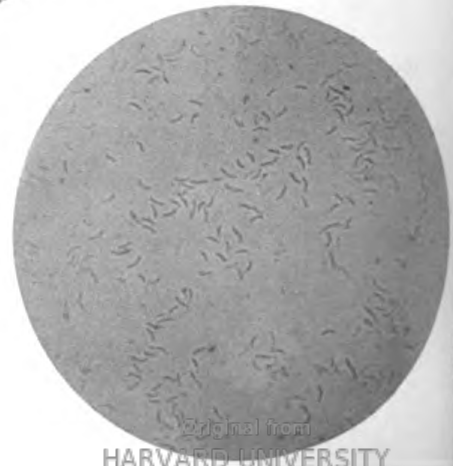
2.



3.



4.



5.

$$2 \text{ C}_4\text{H}_4\text{O}_5\text{K}_2 + 3 \text{ MgSO}_4 = 3 \text{ MgCO}_3 + 2 \text{ K}_2\text{CO}_3 + 3 \text{ CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + 3 \text{ H}_2\text{S}$$

Ich fand:

Vermehrung der Kohlensäure 26,4 ccm N.H.₂SO₄

$$\frac{580,8}{44} \times \frac{34 \times 3}{8} = 168,3 \text{ mg H}_2\text{S,}$$

Im Vorhergehenden glaube ich entschieden bewiesen zu haben, daß die Reduktion von Sulfaten durch *M. desulfuricans* und *M. aestuarii* ein Vorgang ist, der nur anaërob in einem Medium, das außer Sulfaten noch eine geeignete organische Nahrung enthält, möglich ist. Obgleich die hier angeführten Berechnungen sich nur auf leicht oxydierbare Körper beziehen, wie Laktate und Malate, zeigen die genommenen Versuche doch zur Genüge, daß sehr verschiedene organische Stoffe mittels des Sulfatsauerstoffes oxydiert werden können, so daß dieser Sauerstoff in vollkommen übereinstimmender Weise bei der Selbstreinigung der Wässer und bei der biologischen Reinigung von Abwässern wirksam ist wie der Nitratsauerstoff. Die Denitrifikation, die in dieser Hinsicht näher studiert wurde von van Iterson¹⁾, findet also ein biologisches Analogon in der Sulfatreduktion, und ich will hier noch besonders auf die interessante Tatsache hinweisen, daß beide Vorgänge bei Abwesenheit des freien Sauerstoffes stattfinden.

Diese Arbeit wurde ausgeführt im bakteriologischen Laboratorium der polytechnischen Hochschule in Delft.

Fig. 1. *M. desulfuricans*, 3 Tage alte Stickkultur in Gelatine mit Na-Sulfit und Ferrosulfat.

Fig. 3. *M. desulfuricans*, Kolonie mit Schwefeltröpfchen. Vergr. 400mal.

monbeize und Aethylaminsilberlösung. Vergr. 1000mal.

zugleich als Bild von *M. aestuarii* dienen.

1) van Itersen, G., jr., Ophoeringsproeven met denitrificerende bacterien. (Verslagen van de koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. 1902. p. 135.)

Nachdruck verboten.

Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses.

[Mitteilung aus dem hygienischen Institut zu Stockholm und dem Molkereilaboratorium zu Åtvidaberg.]

Von Gerda Troili-Petersson.

Mit 3 Tafeln.

Die recht häufigen Mißerfolge bei der Bereitung eines der gewöhnlichsten schwedischen Hartkäse, des sogenannten Güterkäses (Herrgårdssost) haben mich veranlaßt, die Mikroorganismen dieses Käses zu studieren, um dadurch, wenn möglich, die Ursachen und Bedingungen einer normalen Reifung, insoweit sie von lebenden Fermenten abhängig ist, kennen zu lernen. Obgleich ich seit längerer Zeit mit dieser Frage beschäftigt bin, bin ich noch weit davon entfernt, bestimmte Mikroorganismen als die Erreger der Reifung dieses Käses bezeichnen zu können. Es scheint mir jedoch, daß die bisherigen Ergebnisse ein gewisses Interesse darbieten, da sie einen Ueberblick über die Bakterienflora dieses Käses geben. Ich hoffe, später Versuche über die Wirkung der studierten Mikroorganismen bei der Käsereifung veröffentlichen zu können.

Historisches.

Die Anschauung, daß Mikroorganismen beim Reifungsprozeß des Käses beteiligt seien, wurde schon von Cohn¹⁾ ausgesprochen. Verschiedene Forscher haben später durch Experimente den Beweis dafür geliefert, daß die Mikroorganismen bei der Käsereifung von Bedeutung sind. Sie haben Käse aus möglichst aseptisch gewonnener Milch hergestellt oder die Entwicklung der Mikroorganismen in den Versuchskäsen künstlich gehemmt und die Erfahrung gemacht, daß diese Käse nicht reiften. Mit diesen Versuchen scheinen die Ergebnisse eingehender Untersuchungen von Babcock²⁾ und Russell in Widerspruch zu stehen. Diese Forscher haben den Beweis geliefert, daß das Kasein der Milch von einem Enzym, der Galaktase, die immer in frischer Milch vorhanden ist, zersetzt werden kann, und zwar sind die dabei gebildeten Zersetzungsprodukte des Kaseins den in reifen Cheddarkäsen vorhandenen ähnlich. Die Reifung eines in Chloroform eingetauchten Käses schreiben sie der Wirkung dieses Enzyms zu. Später haben Orla Jensen³⁾ und Babcock⁴⁾ und Russell die Beobachtung gemacht, daß das mit dem Lab zugesetzte Pepsin im Käse eine Umwandlung des Kaseins hervorrufen kann. Babcock und Russell nehmen an, daß die Enzyme der Milch und des Labes bei

1) Biologie der Pflanzen I. Heft 3. p. 190.

2) Diese Zeitschrift. Bd. III. p. 615. Bd. VI. p. 17.

3) Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 734.

4) Ebenda. Bd. VI. p. 817.

der Reifung des Cheddarkäses die Hauptrolle spielen. Später ist es Babcock und Russell auch gelungen, Cheddarkäse bei niedrigen Temperaturen zur Reifung zu bringen, was als Beweis der Richtigkeit dieser Hypothese angeführt wird¹⁾. Ob jede Bakterien- und Bakterienenzymwirkung dabei ausgeschlossen ist, scheint aber zweifelhaft²⁾. Orla Jensen³⁾ kommt bei seinen eingehenden Studien über die Enzyme im Käse zu dem Resultat, daß bei den Backsteinkäsen die durch Mikroorganismen hervorgerufene Gärung wahrscheinlich von einer Pepsinverdauung unterstützt wird. In seiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand hält es Jensen für möglich, daß die Galaktase bei den Emmenthalerkäsen während der ersten Zeit neben der Bakteriengärung Anteil am Reifungsprozesse nehme. Nach weiteren Versuchen⁴⁾ findet er es aber unwahrscheinlich, daß eine Galaktasewirkung dabei von Bedeutung sei.

Es scheint mir festzustehen, daß die Mikroorganismen die größte Bedeutung für die Reifung des Käses haben müssen. Daß bei verschiedenen Käsesorten verschiedene Arten wirksam sind, ist a priori höchst wahrscheinlich. Man kann aber nicht von der Voraussetzung ausgehen, daß bei derselben Käsesorte immer nur dieselben Arten von Mikroorganismen hauptsächlich wirksam seien, da es ja sehr wohl möglich ist, daß verschiedene Arten sich ersetzen können. Um zu erforschen, welche Arten bei einer bestimmten Käsesorte die Reife verursachen, ist es natürlich notwendig, die Bakterienflora dieses Käses kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke muß eine ganze Reihe dieser Käse von verschiedener Herkunft und von verschiedenem Alter untersucht werden. Es ist auch von Gewicht, die Bakterien in weniger gut gelungenen Käsen zu studieren, um zu sehen, ob sie einen Unterschied gegenüber den guten Käsen zeigen.

Die Frage, welche Mikroorganismen bei der Käsereifung von Bedeutung seien, ist zuerst von Duclaux⁵⁾ näher bearbeitet worden, der die bekannte und vielumstrittene Theorie von der Wirkung der sogenannten Tyrothrix-Bacillen aufstellte. Diese Theorie ist hauptsächlich auf das Studium des Cantalkäses und einiger französischer Weichkäse und auf die Ähnlichkeit der Zersetzung des Kaseins bei der Einwirkung von Tyrothrix-Bacillen und bei der Käsereifung gegründet worden. Die Theorie Duclaux' ist derart verallgemeinert worden, daß die Tyrothrix-Arten auch bei den harten Käsesorten die größte Bedeutung bei der Reifung haben sollten. Die Tatsache, daß die Tyrothrix-Bacillen ein sehr seltenes Vorkommnis in den harten Käsen sind, hat aber eine starke Opposition gegen die Duclauxsche Theorie erweckt, und eine scharfe Polemik ist zwischen den Anhängern und Gegnern dieser Theorie ge-

1) Eigtheenth Annual Report of the Wisconsin Agricultural Experiment Station. 1901.

2) Vgl. v. Freudenreich, Ueber den Einfluß niedriger Temperaturen auf die Käsereifung. (Landw. Jahrb. der Schweiz. 1902.)

3) Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 734.

4) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1901.

5) Le Lait (1894). Mémoire sur le lait. 1880.

führt worden. Den Kampf zwischen Adametz und Winkler auf der einen Seite und v. Freudenreich auf der anderen brauche ich nur ganz kurz zu rekapitulieren. Adametz¹⁾ hat die Theorie aufgestellt, daß die Tyrothrix-Arten sich sehr gut in der Rinde des Käses entwickeln und von da aus durch Enzyme die Reifung bewirken; der Käse solle von außen nach innen reifen. Winkler²⁾ nimmt an, daß die Tyrothrix-Arten sich in den ersten Stunden nach dem Bereiten, wenn der Käse noch warm ist, entwickeln und hinreichende Mengen Enzym produzieren, um die ganze Käsemasse umzuwandeln. Gegen diese Ansichten stellt v. Freudenreich³⁾ seine experimentellen Untersuchungen über das Vorkommen der Tyrothrix-Bacillen in der Rinde des Emmenthalerkäses und die Vermehrung derselben in den ersten Tagen nach der Bereitung des Käses. Er hat gefunden, daß die Tyrothrix-Bacillen in der Rinde des Emmenthalerkäses selten sind, auch wenn man ihre Anzahl mit den übrigen verflüssigenden Bakterien vergleicht. Ebenso scheinen die Tyrothrix-Arten sich in der ersten Zeit nach der Fabrikation des Käses nicht zu vermehren, im Gegenteil verschwinden sie recht bald, wenn man sie in großen Mengen der Käsemasse zusetzt. Diese Resultate sind von mir⁴⁾ bestätigt worden. v. Freudenreich bemerkt auch zu der Theorie von Adametz, daß die Auffassung dieses Forschers, daß der Emmenthalerkäse von außen nach innen reife, nicht auf Erfahrung gegründet sei, und hält an der Ansicht fest, daß der Hartkäse gleichmäßig durch die ganze Masse reife.

v. Freudenreich⁵⁾ hat bei seinen Untersuchungen über die Mikroorganismen in Emmenthalerkäse gefunden, daß die Milchsäure bildenden Bakterien in weit überwiegender Anzahl waren, und die Ansicht ausgesprochen, daß die Milchsäurefermente wahrscheinlich die Haupt-, wenn nicht sogar die alleinige Rolle bei der Reifung des Emmenthalerkäses spielen. Möglicherweise seien auch die verflüssigenden Kokken, welche sich in frischem Emmenthalerkäse in beachtenswerter Menge vorfinden, von Bedeutung. Später haben v. Freudenreich und derselbe Forscher in Verbindung mit Orla Jensen eine Menge von Versuchen gemacht, die diese Anschauung bestätigen. Sie haben den Nachweis geliefert, daß die Milchsäurebakterien sowohl in neutral gehaltener Milch⁶⁾ als auch in Emmenthalerkäse⁷⁾ das Vermögen besitzen, das Kasein in lösliche Proteinstoffe sowie in Eiweißzersetzungsprodukte überzuführen. v. Freudenreich⁸⁾ hat auch durch Versuche mit möglichst aseptisch gewonnener Milch seine Ansicht bestätigen können.

Der Theorie v. Freudenreichs treten u. a. Chodat⁹⁾ und

1) Oesterreichische Molkereizeitung. 1899. No. 7.

2) Molkereizeitung. 1900. p. 51 und 52.

3) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1900.

4) Ebenda. 1902.

5) Diese Zeitschrift. Bd. I. p. 168, Bd. V. p. 241.

6) Ebenda. Bd. III. p. 231, Bd. IV. p. 170.

7) Ebenda. Bd. VI. p. 12.

8) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1902. Diese Zeitschrift. Bd. IV. p. 170.

9) Bulletin de l'herbier Boissier. 1898. Annales de l'Institut Pasteur. T. XV. 1901. p. 36.

Hofman-Bang entgegen. Diese Forscher verteidigen die Anschauung von Duclaux und konstatieren, daß *Tyrothrix*-Bacillen in Kaseinkulturen das Kasein in lösliche Form überführen und einen sogenannten Käsegeruch hervorbringen. Sie untersuchen weiter einige aus Emmenthalerkäsen isolierte Milchsäurebakterien auf ihre Fähigkeit, Kasein in lösliche Form überzuführen.

Sie verwenden zu diesem Zweck von Zucker befreiten Käsestoff, der nach dem Auswaschen getrocknet, wieder angefeuchtet und bei 120 ° sterilisiert ist. Sie kommen zu dem Resultate, daß die Milchsäurebakterien den Käsestoff intakt lassen, und ziehen daraus die Folgerung, daß die Theorie von Freudenreichs, wonach die Milchsäurebakterien den Hauptanteil an der Reifung nehmen, unrichtig sei.

Chodat und Hofman-Bang bemerken, daß man fragen könne, warum sie bei ihren Versuchen mit Kasein den Zucker entfernt haben. Sie geben als Grund dafür an, daß der Zucker recht bald aus den Emmenthalerkäsen verschwindet und daß die gebildete Säure die Entwicklung der Milchsäurebakterien hindern würde. Ich möchte dazu bemerken, daß die Milchsäurebakterien nach Versuchen von v. Freudenreich¹⁾ und vom Verf.²⁾ nicht in den allerersten Tagen, wo der Käse verhältnismäßig reich an Milchzucker ist, in großer Anzahl vorhanden sind, sondern erst nach einigen Tagen sehr zahlreich werden. Es ist auch wohl möglich, daß der Unterschied zwischen ausgewaschenem und erhitztem Kasein und dem normalen Käseteig von großer Bedeutung für das Wachstum der Milchsäurebakterien sein kann, indem die Zersetzungsprodukte des Zuckers, wenn die Säure durch den weiteren Verlauf der Reifung neutralisiert wird, bei der Ernährung eine Rolle spielen können. Es wäre ja auch einzuwenden, daß das Kasein durch das Erhitzen vielleicht allzusehr verändert würde. Chodat und Hofman-Bang bemerken dazu, es stehe noch dahin, dies zu beweisen. Es scheint mir aber, daß es ihnen festzustellen obliegt, daß die Erhitzung des Kaseins bedeutungslos ist.

Sowohl v. Freudenreich³⁾ wie Babcock⁴⁾ und Russell haben Untersuchungen über die Rolle des Milchzuckers bei der Käsereifung vorgenommen und sind zu den Resultaten gekommen, daß sowohl bei Emmenthaler- wie bei Cheddarkäse der Zucker für den normalen Verlauf der Reifung von großer Bedeutung ist. Die Bakterientypen, welche im Käse zur Entwicklung kommen, stehen nämlich im inneren Zusammenhange mit dem Vorhandensein des Zuckers im Käse. Babcock und Russell bemerken, daß bei der Abwesenheit des Zuckers die verflüssigenden Organismen besser gedeihen können, und daß unter diesen Umständen ein fauler Geschmack erzeugt wird.

Der Ansicht v. Freudenreichs schließt sich Epstein⁵⁾

1) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1901.

2) Ebenda. 1902.

3) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1901.

4) Diese Zeitschrift. Bd. IX. p. 757.

5) Archiv für Hygiene. Bd. XXXVII. p. 329.

an. Er macht einige Versuchskäse aus durch fraktionierte Erhitzung bei 65—70° steril gemachter Milch, impft mit verschiedenen Reinkulturen von Milchsäurebakterien und beurteilt die Art der Reifung durch makroskopische Kennzeichen, Lochung, Farbe etc., Geschmack und Geruch. Es wird von Käsen, die den Geruch eines schwach gereiften Emmenthaler-, eines schwach gereiften Camembert- oder den Geschmack eines halb gereiften Käses oder eines schwach gereiften Edamerkäses u. s. w. haben, gesprochen. Der Verf. schließt hieraus, daß die Milchsäuregärungsorganismen tatsächlich die Richtung der Käsereifung bestimmen und eine richtige Reifung einleiten und vermutlich auch zu Ende führen können. Er spricht auch der Art der Labung und der Reifungstemperatur Bedeutung zu. Weiter bemerkt er als ein wichtiges Ergebnis: „Die Arten der Milchsäureerreger sind entscheidend für die Form, in welcher die Reifung eintritt.“ Ohne bestreiten zu wollen, daß die Art die Reifung beeinflußt, was mir a priori klar scheint, will ich die Aufmerksamkeit darauf lenken, daß auch der Gehalt von Molke und deren Verteilung sowie die mechanische Beschaffenheit des Bruches sehr wichtig ist. Von Teilung und Bearbeiten des Bruches, um den richtigen Molkengehalt und die richtige Konsistenz zu erhalten, sowie vom Nachwärmen, das diese Faktoren beeinflußt, wird bei der Bereitung der Versuchskäse, die doch als Repräsentanten für Hartkäse gelten, nichts gesagt.

Boekhout und de Vries, die den Reifungsprozeß des Edamerkäses eingehend studiert haben, ziehen u. a. die Schlußfolgerung¹⁾, daß, wenn man auch die Reifungsorganismen unter den Milchsäurefermenten suchen müsse, jedenfalls nicht jedes beliebige Milchsäureferment fähig sei, die Reifung hervorzubringen. In einer späteren Arbeit²⁾ suchen Boekhout und de Vries die Reifungserreger unter den stäbchenförmigen Milchsäurefermenten, welche die Fähigkeit besitzen, ohne Milchzucker zu wachsen.

Eine andere Anschauung wird von Weigmann³⁾ vertreten, der die Reifung des Käses einer Symbiose und Metabiose mehrerer Arten zuschreibt. Die Milchsäurebakterien⁴⁾ spielen nach Weigmann die Rolle, daß sie den Käseteig für die „eigentlichen Käsebakterien“ vorbereiten. Er schreibt den Buttersäurebildnern und speziell einem obligaten Anaëroben, der die Fähigkeit besitzt, das Kasein zu koagulieren und nachher zu peptonisieren, eine große Bedeutung zu. Eine andere anaërobe Bakterienart, die an der Reifung eines Käses beteiligt sein soll, ist von v. Klecki⁵⁾ beschrieben worden.

Johan-Olsen, der eine Anzahl verschiedener Käsesorten und auch Hartkäse im Großen aus pasteurisierter Milch unter Zusatz von Kulturen von Mikroorganismen herstellt, faßt seine Erfahrung über die Wirkung der Mikroorganismen bei der Käsereifung folgendermaßen zusammen: Die Reifung der Käse wird

1) Diese Zeitschrift. Bd. V. p. 304.

2) Ebenda. Bd. VII. p. 817.

3) Ebenda. Bd. II. p. 150.

4) Ebenda. Bd. IV. p. 593, Bd. V. p. 630.

5) Ebenda. Bd. II. p. 169.

durch Symbiosegärungen hervorgerufen. Gewisse Arten von Mikroorganismen sind gemeinsam für die meisten Käsearten; diese sind diejenigen, welche den Käsestoff zuerst angreifen. Zu den immer anwesenden Arten gehören die Milchsäurebakterien, die aber den Käsestoff nicht direkt beeinflussen. Außer den generellen Käsemikroorganismen hat jede Käsesorte spezielle Arten, die nebst der technischen Herstellungsweise der Käse ihre spezielle Konsistenz, den Geschmack, Geruch und das Aussehen bestimmen. Diese speziellen Arten können Schimmelpilze, Hefen oder Bakterien sein.

Nach diesem kurzen Ueberblick über einige für meine Arbeit wichtige Ergebnisse der Forschung auf dem Gebiete der Käse-reifung gehe ich zu meinen eigenen Untersuchungen über.

Bereitung des Käses.

Der schwedische Güterkäse (Herrgårdsost), dessen Bakterienflora ich studiert habe, ist ein Hartkäse, der dem Emmenthalerkäse ziemlich nahe steht, nicht aber mit demselben identisch ist. Die Größe des Güterkäses ist viel geringer als die des Emmenthalerkäses; sie beträgt ungefähr 30–35 cm im Diameter und 10–12 cm in der Höhe. Die Milch wird bei 28–30 ° C circa 50 Minuten gelabt. Der Bruch wird dann mit Bruchmesser und Rührer bis zu Bohnengröße der einzelnen Teilchen zerkleinert. Man läßt dann den Bruch auf den Boden des Käsekessels sinken, läßt gewöhnlich einen Teil der Molke abfließen und rührt den Bruch wieder auf. Nachdem der Bruch in den Molken gut verteilt ist, wird die ganze Masse (durch Zulassen von Dampf im doppelwandigen Kessel) langsam bis auf 45–50 ° C (in 50–60 Minuten) erwärmt. Wenn der richtige Wärmegrad erreicht ist, wird noch 15–20 Minuten gerührt. Der Bruch darf dann sinken, wird mit einem Käsesäbel in Stücke von der richtigen Größe geschnitten und mit den Händen unter der Molke gepreßt und geformt. Der Käse kommt dann für ungefähr 2 Tage unter die Presse, nachher für 5–6 Tage in starke Salzlösung und danach in den Käsekeller, wo er zuerst bei 14–18 ° und später bei 10–16 ° C aufbewahrt wird. Nach 6–10 Monaten kommt der Käse in den Handel. Er soll dann, wie der Emmenthalerkäse, über die ganze Schnittfläche gleichmäßig verteilte „Augen“ haben. Diese „Augen“ sind aber kleiner als die des Emmenthalerkäses und zahlreicher als bei diesem Käse.

Methoden der Untersuchung.

Probenahme: Ein kleiner Teil der Oberfläche des Käses wurde mit einem heißen Eisen abgebrannt und eine Probe mit einem flambierten gewöhnlichen Käsebohrer genommen. Die Probe wurde in einem sterilen Reagenzrohr bis zur Untersuchung aufbewahrt. Diese wurde, wenn möglich, gleich ausgeführt; in den Fällen, wo die Proben eine längere Strecke transportiert werden müßten, könnten sie gewöhnlich erst den folgenden Tag in Arbeit genommen werden.

Die Methoden der Untersuchungen sind nicht bei allen Proben dieselben gewesen, sondern sie sind allmählich verändert worden.

Von einem Teil der Proben wurden abgewogene Stückchen in Bouillon mit einem Glasstäbchen möglichst fein verrieben; die so erhaltene Emulsion samt quantitativen Verdünnungen derselben wurden zu Plattenkulturen verwendet. Die übrigen Proben wurden in ähnlicher Weise behandelt, die Probestückchen wurden jedoch nicht gewogen. Bei der ersten Probenserie wurden nur Platten mit Molkengelatine und Zuckeragar angelegt. Die Molkengelatine war von schwach saurer Reaktion und mit Pepton versetzt. Die Emulsion wurde auch zur Impfung von steriler Milch benutzt.

In den folgenden Serien habe ich auch zuckerfreien Agar und mehrere verschiedene Gelatinesorten für das Plattengießen verwendet. Schwach alkalische Fleischextraktnährgelatine mit Pepton ist als ein sehr guter Nährboden für die peptonisierenden Bakterien benutzt worden. Auch mit Würzelgelatine und Milchgelatine mit Lackmuszusatz wurden bei einigen Proben Platten angelegt. Nach Boekhout und de Vries sollen gewisse Käsebakterien am besten in zuckerfreien sauren Nährböden gedeihen; ich habe deshalb gewöhnliche Nährgelatine mit Pepton durch Zusatz von Milchsäure sauer gemacht und auch Gelatine aus einer Art Käseextrakt bereitet. Dieses Käseextrakt wurde folgenderweise hergestellt: Frische Käsemasse wurde nach beendigtem Nachwärmen und Rühren aus dem Käsekessel genommen und einen Tag mit Wasser unter Zusatz von Kaseol digeriert. Kaseol ist ein Präparat, womit beabsichtigt wird, die Reifung des Käses zu beschleunigen. Es enthält Enzyme, die auf das Kasein auflösend wirken. Nach eintägigem Digerieren wurde die ganze Masse eine Stunde in Dampf gekocht, nochmals mit Kaseol versetzt und wieder sich selbst für 2 Tage überlassen.

Es hat sich indessen gezeigt, daß es nicht notwendig war, so viele verschiedene Nährsubstrate zur Plattenkultur zu verwenden. Obgleich die Milchgelatine sich durch den Kaseingehalt von der Molkengelatine unterscheidet, scheinen nur diejenigen Bakterienarten, die in der Molkengelatine wachsen, in der Milchgelatine zur Entwicklung zu kommen. Die Würzelgelatine wurde auch nur selten zur direkten Plattenkultur gebraucht, da es zweckmäßiger ist, eine Kultur in Würze zu verwenden, um eine Anreicherung der Hefen zu erhalten. Die Hefen entwickeln sich außerdem sehr gut in anderen verwendeten Nährgelatinen. Ich habe nach der Methode von Dr. Johan-Olsen auch andere Nährflüssigkeiten zur direkten Impfung mit Käse verwendet. Als solche wurden außer den erwähnten Milch und Würze auch gewöhnliche Bouillon von schwach alkalischer oder saurer Reaktion und mit Kaseol hergestellter Käseextrakt benutzt. Wenn eine reiche Vegetation sich in der Nährflüssigkeit entwickelt hatte, wurde sie mikroskopisch untersucht, und wenn Bakterienformen dort gefunden wurden, die von den durch die Plattenkulturen erhaltenen verschieden aussahen, wurden davon Plattenkulturen angelegt. Der Vorteil, den die Nährflüssigkeiten darbieten, ist evident. Erstens kann ein Zusatz von Agar und Gelatine zuweilen zurückhaltend auf die Entwicklung der Mikroorganismen wirken, zweitens kann man bei

den Nährflüssigkeiten bedeutend reichlicher impfen. Dies kann von Bedeutung sein, da die Mikroorganismen, wie ich mich durch Beobachtung von Strich- und Schnittpräparaten der Käse überzeugt habe, in der Käsemasse sehr ungleichmäßig verteilt sind. In den verschiedenen Nährflüssigkeiten finden die Mikroorganismen verschiedene physiologische Bedingungen für die Entwicklung, und eine Art, die sonst von anderen verdrängt würde, könnte sich in einer dieser Flüssigkeiten geltend machen.

Um die Entwicklung der peptonisierenden Bacillen und der anaëroben Arten zu erleichtern, wurden oft Agar und Zuckeragarplatten aus auf ca. 80° erwärmter Emulsion angelegt. Von der ersten Probenreihe, Käsen a—g, wurden aërobe Platten aus gekochter Emulsion angelegt.

Zur Anaërobenkultur wurden verschiedene Methoden verwendet. Gewöhnlich wurden Plattenkulturen hergestellt und die Platten in einen Exikkator gebracht, wo die Luft durch besondere Vorrichtungen durch Wasserstoff ersetzt werden konnte, oder der Sauerstoff durch Pyrogallol absorbiert wurde. Zuweilen wurden die Platten einfach mit Zuckeragar bis zum Rande gefüllt und die Deckel eines größeren Petri-Schälchens aufgelegt. Ueberdies wurde die Methode von Burri¹⁾ oder auch anderswie Agaragar in hoher Schicht benutzt. Anaërobenkulturen wurden zuweilen von sowohl erwärmter als auch nicht erwärmter Emulsion angelegt.

Die Untersuchung auf die Eigenbewegung der Stäbchen ist in folgender Weise ausgeführt worden: Frische Kulturen der verschiedenen Arten wurden im hängenden Tropfen geimpft und sogleich sowie nach einigen Stunden beobachtet. Als Nährflüssigkeit wurde Zuckerbouillon verwendet. Wenn die Stäbchen bei dieser Untersuchung keine Eigenbewegung zeigten, wurden sie unter der Rubrik: „Eigenbewegung nicht beobachtet“ angeführt.

Die Messungen sind mit Zeiss' Apochromat Okular 6 oder mit Seiberts Apochromat Okular III ausgeführt worden. Eine Anzahl von Bakterien wurde sowohl gefärbt (in Wasser) wie ungefärbt gemessen, die anderen nur gefärbt und getrocknet.

In der ersten Probenreihe habe ich sowohl die äußere Schicht, dicht unter der Rinde, wie die innere Käsemasse untersucht. Da aber kein Unterschied zwischen dem äußeren und inneren Teile des Käses beobachtet wurde, habe ich später nicht jede für sich untersucht.

Die Kultur jeder isolierten Bakterienart wurde durch wiederholtes Plattengießen auf ihre Reinheit hin geprüft.

Die folgende Tabelle zeigt den Fabrikationsort und die Beschaffenheit der verschiedenen untersuchten Käse sowie das Alter derselben und die Methode, die in jedem einzelnen Falle angewandt wurde:

1) Diese Zeitschrift. Bd. XVIII. p. 533.

Beschreibung der gefundenen Arten.**A. Stäbchen.**

Bacterium. Die Länge des Stäbchens beträgt in irgend einer Entwicklungsform mehr wie die doppelte Breite. Keine Endosporen.

α) Stäbchen mit Eigenbewegung.**Bacterium 1.**

Fundort: Käse XVII (Alter 2 Tage), nur in Milchkultur gefunden.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,5 bis 0,8 μ . Einzelne Stäbchen von verschiedener, zuweilen bedeutender Länge oder Ketten mit sehr kurzen Gliedern. Keine Sporen. Eigenbewegung.

Die Kolonien in Molkengelatine sind von eigenartigem Aussehen. Sie bilden ziemlich große, weißliche Körnchen, von denen oft eine Menge kleiner Aestchen ausstrahlen, die der Kolonie zuweilen ein Aussehen geben, welches an Kolonien von einer Streptothrix erinnern.

Die Ausstrahlungen treten bei den verschiedenen Kolonien in sehr wechselnder Menge auf.

Stichkulturen. In der direkt von der Kolonie geimpften Molkengelatinekultur wurde die Gelatine gleichförmig von der Oberfläche verflüssigt. Das Verflüssigungsvermögen ist später beinahe verloren gegangen, indem die Kultur in Peptongelatine nur eine Erweichung der Gelatine und die in Molkengelatine ein trockenes Oberflächenwachstum zeigt.

Das Wachstum im Stich ist in Molkengelatine sehr unbedeutend, in Peptongelatine besser entwickelt. In einer Kultur ist vom Stich in Peptongelatine eine Menge zarter Ausläufer ausgegangen (vergl. Kolonien), die tief in die Gelatine hineingedrungen sind und beinahe das ganze Rohr in der Länge des Stiches ausfüllten.

Strichkultur. Zuckeragar 37° C: Ziemlich dicker, schleimiger Belag.

Zuckerbouillon ca. 20° C: Schon nach einem Tage getrübt, nach 3 Tagen starke Trübung; es setzt sich allmählich ein flockiger Bodensatz ab.

Milchkultur. Die Milch wird bei 20—25° C nach längerer Zeit bei amphotherer Reaktion unter Ausscheidung von Molken zur Koagulation gebracht.

Bacterium 2.

Fundort: Käse XI, in den Peptongelatineplatten häufig.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,5 bis 0,7 μ , die Länge gewöhnlich wenig mehr als 2 μ . Stäbchen von 5 μ Länge kommen selten vor. Die Stäbchen sind gewöhnlich einzeln, zuweilen zu zweien. Eigenbewegung.

Die Kolonien in Molkengelatine sind ziemlich groß, die oberflächlichen breiten sich auf der Oberfläche aus. Der Rand ist buchtig und macht den Eindruck, als ob die Kolonie aus ver-

schiedenen aufeinander gelegten Schichten bestehe. Auch in Peptongelatine bildet das Bakterium Kolonien von mehr als mittlerer Größe.

Die Stichkultur in Molkengelatine zeigt ein durchscheinendes, kräftiges Wachstum an der Oberfläche; auch im Stich gedeiht das Bakterium ziemlich gut, im unteren Teile nimmt das Wachstum doch ein wenig ab.

In Strichkultur auf Zuckeragar bildet das Bakterium einen ziemlich dicken Belag.

Zuckerbouillon wird getrübt.

Milch wird bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht. Der Geschmack wird scharf und unangenehm.

Bacterium 3.

Fundort: Käse XXIII, Bouillonkultur.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,5 bis 0,8 μ : ovale bis ziemlich lange Stäbchen, gewöhnlich einzeln, Eigenbewegung.

Kolonien in Molkengelatine. Die eingeschlossenen Kolonien sind klein, rund und von einem scharfen Rande umgeben. Die oberflächlichen Kolonien sind ziemlich groß und tropfenförmig.

Stichkulturen. In Molkengelatine gutes Oberflächenwachstum; auch im Stich gedeiht das Bakterium gut. Zuweilen Risse in der Gelatine, eine schwache Gasbildung andeutend. In Zuckeragar bei 37° gutes Wachstum an der Oberfläche und im Stich. Starke Gasentwicklung, die ganze Agarmasse wird von kleinen Gasbläschen durchsetzt.

In Strichkultur auf Zuckeragar bildet sich ein schwacher, schleimiger Belag.

Die Kultur in Zuckerbouillon zeigt bei 20° nach 3 Tagen eine starke homogene Trübung.

Milch wird bei 20–25° schwach sauer; nach längerer Zeit bildet sich im Reagenzrohr ein Bodensatz von ungefähr $\frac{1}{2}$ cm Höhe; die Milch koaguliert selbst nach mehreren Wochen nicht vollständig.

Gasbildung. In Zuckeragar bei 37° starke Gasentwicklung.

In dem Käse XI und in Milchkultur der 1. Probenserie wurden gasbildende Bakterien gefunden, die nicht auf Eigenbewegung geprüft werden konnten.

Das aus Käse XI isolierte Bakterium war von sehr wechselnder Länge, es kamen kurze und lange Stäbchen vor. Die Breite betrug ca. 8 μ . Die Stichkultur im zuckerhaltigen Nährboden zeigte gutes, gleichmäßiges Wachstum im Stichkanal, an der Oberfläche geringes Wachstum. Milch wurde bei saurer Reaktion unter Gasbildung zur Koagulation gebracht. Das aus Milchkultur isolierte Bakterium unterscheidet sich von dem vorigen durch gutes Oberflächenwachstum in der Stichkultur.

β) Eigenbewegung nicht beobachtet. Große Stäbchen, 0,8–1,5 μ breit. Die Länge variiert sehr, runde oder ovale Zellen und lange Stäbchen kommen vor.

Bacterium 4.

Fundort: Käse XXIII, in Würzgelatineplatten ziemlich häufig (möglicherweise auch in Käse XIX gefunden).

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,8 bis 1,1 μ . Die Länge variiert stark, Stäbchen von 1,5–6,5 μ kommen oft vor, die gewöhnlichste Länge ist 2–4 μ . Man kann zuweilen beobachten, daß die langen Stäbchen sich in sehr kurze Glieder teilen.

Kolonieen. Die eingeschlossenen Kolonien sind in Molken-
gelatine ziemlich groß und von Kokardenform.

Die Stichkultur in Molkengelatine zeigt gleichförmiges Wachstum längs des ganzen Stichkanals. An der Oberfläche ist das Wachstum sehr schwach. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Strichkulturen. Auf Zuckeragar bei 25° bildet sich ein schwacher Belag. Auf Agar ist ein Wachstum mit bloßem Auge nicht wahrnehmbar.

In Zuckerbouillon bildet sich allmählich ein starker Bodensatz; die Bouillon wird klar.

Milch wurde bei 20–25° in 5 Wochen nicht makroskopisch verändert; nach 9 Wochen war sie zum geringen Teil koaguliert, die Reaktion war sauer.

Bacterium 5. = *Bacterium dimorphum* n. sp. (Phot. 1 u. 2).

Fundort: Käse XV. In einer Peptongelatineplatte häufig.

Morphologisches. Die Morphologie dieses Bakteriums erinnert in mehreren Beziehungen an ein von Almquist beschriebenes Colibakterium¹⁾. Es kommt sowohl in runder Kokkenform wie in Stäbchenform vor. Die Stäbchen sind gewöhnlich 0,8–1 μ breit und 1,5–3 μ lang. Zuweilen findet man auch Stäbchen, die 5 μ in der Länge messen, und ausnahmsweise beträgt die Breite 1,3 μ . Der Diameter der Kokkenform variiert zwischen 0,8–1,3 μ ; ein Durchmesser von 0,8–1 μ ist das Gewöhnliche. In Agarkultur bei 17° findet man nach 1 Tage fast ausschließlich Stäbchen; nach 2 Tagen ist die Hauptmasse dieser Stäbchen in runde Formen zerfallen. Die verschiedenen Teile hängen oft zusammen und machen den Eindruck von Streptokokkenketten. In diesen Ketten sieht man oft ein paar oder mehrere Glieder, die winkelrecht gegen die Längsachse des früheren Stäbchens ausgewachsen sind. Diese Stäbchen, die mit der Längsseite gegeneinander liegen, teilen sich dann wieder, so daß das Ganze 2 dicht nebeneinanderliegende Kokkenreihen bildet. Da die verschiedenen Kokken in einer Kette sich nicht gleichzeitig entwickeln, sieht man oft Ketten, in welchen neben den aus dem Zerfallen der Stäbchen gebildeten Kokken auch Stäbchen und geteilte Stäbchen bestehen, die winkelrecht gegen die Längsrichtung der Kette liegen (Photographie 1).

1) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XV. p. 283.

Es wurden von dieser Art mehrmals wiederholte Plattenkulturen angelegt, um die Reinkultur zu sichern.

Kolonieen. In Molkengelatine, sowie in Peptongelatine sind die eingeschlossenen Kolonien ziemlich klein; sie sind rund und von einem scharfen Rande begrenzt. Die oberflächlichen Kolonien breiten sich auf die Gelatine aus und werden sehr groß, der Rand ist scharf.

Stichkulturen. Das Bakterium wächst sowohl in Molken- wie in Peptongelatine sehr stark an der Oberfläche. Im Stichkanal ist das Wachstum sehr schwach und nimmt in den unteren Teilen der Gelatine ab. Nach einigen Tagen fängt die Verflüssigung der Gelatine an und geht von der Oberfläche gleichmäßig aus, bis allmählich der größte Teil der Gelatine aufgelöst worden ist.

Strichkultur. Auf Agar bildet sich ein starker, schleimiger, gelber Belag.

In Zuckerbouillon hat sich nach 3 Tagen bei ca. 20° ein Bodensatz abgelagert. Die Bouillon ist trübe.

Milch wird peptonisiert. Die Reaktion wird alkalisch.

Bacterium 6.

Fundort: Käse XXII, in Peptongelatineplatten und in Bouillonkultur gefunden; Käse XVI. Peptongelatineplatte.

Morphologisches. Die Breite beträgt gewöhnlich 0,9—1,3 μ , selten 1,5 μ , die Länge 1,5—3 μ . Die Stäbchen kommen gewöhnlich einzeln, zuweilen zu zweien vor.

Kolonieen. In Molkengelatine wachsen die Kolonien sehr schnell und erreichen eine bedeutende Größe. Einmal wuchsen die Oberflächenkolonien in 4 Tagen bis zu 4 mm im Diameter, die eingeschlossenen Kolonien bis zu ca. 1 mm. Die Oberflächenkolonien sind gewöhnlich tropfenförmig mit unregelmäßigem Rande. Die tiefliegenden Kolonien sind ziemlich scharf umrandet, rund oder wenig unregelmäßig.

Die Stichkultur in Molkengelatine zeigt gutes Oberflächenwachstum. Im Stichkanal wächst das Bakterium gleichförmig, aber schwach. Infolge Gasentwicklung entstehen kleine Blasen in der Gelatine. Diese wird nicht verflüssigt.

Strichkultur. Auf Zuckeragar bildet sich bei 20° und bei 38° ein dicker schleimiger Belag.

Milch wird bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht. In Milchkultur verhalten sich 2 Varietäten dieser Art (beide aus Käse XXII) ziemlich verschieden. Die eine Varietät (1) brachte die Milch bei 23—26° in 1 Tage zur Koagulation, die andere (2) erst nach etwa 2 Wochen. In der Milchkultur von der Varietät 1 bildeten sich durch die Gasentwicklung Blasen im Koagulum.

Gasbildung in zuckerhaltigem Nährboden.

Bacterium 7.

Fundort: Käse XXII, Peptongelatine. Käse XVIII, Peptongelatine. Käse XVII, Milchkultur.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,8—1,1 μ , die Länge 1,5—3 μ .

Kolonieen. Die Oberflächenkolonieen in Molkengelatine sind groß und tropfenförmig. Die eingeschlossenen Kolonieen sind von mittlerer Größe und haben in der Mitte einen dunkleren Kern, sie sind rund und von einem ziemlich scharfen Rand begrenzt.

Stichkulturen. In Molkengelatine wächst das Bacterium ziemlich gut an der Oberfläche, gleichmäßig und gut im ganzen Stichkanal. In Peptongelatine ist das Oberflächenwachstum stark entwickelt.

In Zuckerbouillon bildet sich ein starker Bodensatz; die Bouillon ist nach einigen Tagen klar.

Milch wird nicht makroskopisch verändert.

7) Eigenbewegung nicht beobachtet. Breite des Stäbchens 0,3—0,8 μ . Gelatine verflüssigend.

Bacterium 8.

Fundort: Käse XX, Agarplatte.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,3—0,5 μ , die Länge 1,5—3 μ . Die Stäbchen kommen gewöhnlich einzeln vor.

Kolonieen. In Molkengelatine sind die Kolonieen klein, rund und von einem scharfen Rande begrenzt.

Stichkulturen. Das Wachstum in Molkengelatine ist an der Oberfläche sehr stark, nimmt im Stichkanal gegen den Boden des Reagenzrohres allmählich ab. Die Gelatine wird von oben an ein wenig verflüssigt. In Peptongelatine ist die Verflüssigung stärker und geht gleichförmig von der ganzen Oberfläche aus.

Strichkultur. Auf Zuckeragar wächst das Bacterium bei 20—25° langsam und bildet einen ziemlich dicken Belag.

Milch wird peptonisiert. Die Reaktion bleibt amphoter. Der Geschmack wird bitter und sehr unangenehm. Es bildet sich ein gelber Bodensatz und an der Oberfläche ein gelber Rand.

Bacterium 9.

Fundort: Käse IX, Peptongelatinplatte ziemlich häufig; Käse XIII, Peptongelatineplatte nicht häufig.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt etwa 0,3—0,4 μ , die Länge gewöhnlich 1—2 μ . Die Stäbchen kommen oft in kürzeren Ketten vor.

Kolonieen. In Molkengelatine sind die Kolonieen von mittlerer Größe, grobkörnig und von einem ziemlich scharfen Rande begrenzt. Die Kolonien sind am Rande heller als in der Mitte. Die Kolonieen in Peptongelatine sind gut begrenzt und von einer großen verflüssigten Zone umgeben.

Stichkultur. Die Molkengelatine wird allmählich trichterförmig mit weiter Oeffnung verflüssigt. Gutes, gleichmäßiges Wachstum im Stichkanal.

Strichkultur. Auf Zuckeragar (bei 25°) bildet sich allmählich ein ziemlich starker schleimiger Belag.

In Zuckerbouillon entsteht bei ca. 20° in 1 Tage eine schwache Trübung. Nach 3 Tagen hat sich die Bouillon etwas stärker getrübt und ein Bodensatz hat sich abgesetzt.

Milch wurde bei 25° in 6 Tagen koaguliert. Die Reaktion ist sehr schwach sauer, der Geschmack aromatisch. Das Koagulum hat Molke ausgeschieden.

Bacterium 10.

Fundort: Käse XIX, Molkengelatine; Käse XVI, Zuckerbouillonkultur.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,7—0,8 μ , die Länge ist gewöhnlich 1,5—3 μ , längere Stäbchen, bis zu 6—7 μ , kommen auch vor.

Die Kolonien sind gut begrenzt und von einer kleinen Zone verflüssigter Gelatine umgeben.

Stichkultur. Die Molkengelatine wird von der Oberfläche aus gleichmäßig verflüssigt.

Strichkulturen. Auf Zuckeragar bildet sich ein schleimiger Belag. Auf Agar sieht man nach 1 Tage bei 38° ein zartes Wachstum längs den Impfstrichen, allmählich wird ein dicker Belag gebildet.

In Zuckerbouillon entsteht ein ziemlich großer Bodensatz, die Bouillon bleibt klar.

Milch wird nach längerer Zeit koaguliert und peptonisiert. Die Reaktion wird alkalisch. Geruch nach Leim.

δ) Eigenbewegung nicht beobachtet. Gelatine wird nicht verflüssigt. In Stichkultur Wachstum an der Oberfläche. Breite des Stäbchens 0,8 μ und weniger.

Bacterium 11.

Fundort: Käse XVII, Kultur in sauer Bouillon.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,5—0,7 μ , die Länge 1—3 μ .

Die Kolonien in Molkengelatine sind unregelmäßig in der Form und von verschiedener Größe.

Stichkultur. In Molkengelatine bildet sich an der Oberfläche eine dicke, gelbliche Kruste. Das Wachstum im Stichkanal nimmt sehr rasch ab.

Strichkultur. Auf Zuckeragar bildet sich bei 34° in 1 Tage ein kaum wahrnehmbarer Belag; bei 20—25° ist der Belag nach einigen Tagen längs des Impfstrichs ziemlich stark und von weißer Farbe.

Milch wurde bei 30° in 2 Tagen unter Ausscheidung von Molken koaguliert.

Bacterium 12.

Fundort: Käse XXII und XXIII, in Peptongelatineplatten ziemlich selten.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,7—0,8 μ , die Länge 1,5—6 μ . Die Stäbchen kommen einzeln oder zu zweien vor.

Die Kolonien in Molkengelatine sind rund oder kokardenförmig und von einem scharfen Rand begrenzt. Die eingeschlossenen Kolonien sind von mittlerer Größe; die Oberflächenkolonien sind größer.

Stichkultur. In Molkengelatine gedeiht das Bacterium gut, sowohl an der Oberfläche wie im Stich. Das Wachstum im Stichkanal ist gleichmäßig von oben bis unten.

In Zuckerbouillon bildet sich unter Trübung der Bouillon ein ziemlich starker Bodensatz.

Milch wurde bei 20–25° in längerer Zeit zum geringen Teil koaguliert.

Diese Art zeigt eine gewisse Uebereinstimmung mit *B. Castellum Henrici*, scheint jedoch durch mangelnde Gasbildung u. s. w. verschieden zu sein.

Bacterium 13.

Fundort: Käse II, Molkengelatineplatte.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,7 μ , die Länge 2–3 μ . Die Stäbchen kommen einzeln oder in kurzen Ketten vor. Die Enden der einzelnen Stäbchen sind abgerundet.

Kolonien. In Molkengelatine sind die Kolonien rund und oft scharf umrandet, es kommen auch Kolonien mit diffusem Rand vor.

Stichkultur. Das Bacterium bildet eine grauweiße, spröde Vegetation an der Oberfläche, im Stichkanal gedeiht es schlecht.

Strichkultur. Auf Zuckeragar bildet sich bei 25° ein zarter Belag.

Milch wird bei Zimmertemperatur nicht makroskopisch verändert.

Bacterium 14.

Fundort: Käse XV, in Zuckeragarplatte und in Kultur in saurer Bouillon; Käse XVI, in Peptongelatineplatte und in Kultur in saurer Bouillon.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt 0,8 μ , die Länge 1,5–5 μ . (Diese Art konnte nicht auf Eigenbewegung geprüft werden, da sie bald zu Grunde ging.)

Die Kolonien in Molkengelatine sind ziemlich groß, rund und von einem scharfen Rand begrenzt.

Stichkultur. In Molkengelatine, sowie in Peptongelatine gedeiht das Bacterium gut, sowohl an der Oberfläche wie im Stichkanal.

Milch wurde bei ca. 30° in 5 Tagen fest koaguliert, und zwar unter saurer Reaktion. Der Geschmack ist eigentümlich sauer.

ε) Eigenbewegung nicht beobachtet. Gelatine wird nicht verflüssigt. Breite des Stäbchens 0,8 μ und weniger. Kein oder geringes Oberflächenwachstum in Stichkultur.

Bacterium 15. (Phot. 3.)

Fundort: Käse V, IX, X, XI, XII, XIV, XV, XVI, XVII,

XVIII, XIX, XX, XXII, XXIII. In verschiedenen Nährböden sehr häufig.

Morphologisches: Die Breite des Stäbchens beträgt $0,6-0,8\mu$. Die Länge variiert sehr, gewöhnlich beträgt sie $1,5-3\mu$, es kommen aber auch sehr kurze und sehr lange Stäbchen vor. Ketten von kurzen Stäbchen sind häufig.

Die Kolonien in Molkengelatine sind von mittlerer Größe, scharf umrandet, gewöhnlich rund, selten wenig unregelmäßig in der Form.

Stichkulturen. In Molkengelatine gedeiht das Bakterium sehr gut und gleichmäßig im ganzen Stichkanal. An der Oberfläche wächst es nicht oder steht kümmerlich in Form von einem kaum wahrnehmbaren Belag bei der Einstichöffnung. Das Wachstum in Peptongelatine ist weniger kräftig als das in Molkengelatine, doch ziemlich gut.

Strichkulturen. Auf Zuckeragar entsteht bei 38° in einem Tage ein dünner Belag; bei $20-25^{\circ}$ ist der Belag nach 2 Tagen noch zart, allmählich wird er dicker, erreicht doch nie eine bedeutende Stärke. Der Zuckeragar trübt sich. Auf Agar kaum sichtbares Wachstum.

In Zuckerbouillon bildet sich bei 20° in 3 Tagen bei schwacher Trübung der Bouillon ein Bodensatz, der später sehr stark wird.

Milch wird bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht. Die verschiedenen Stämme dieser Bakterienart variieren stark in Bezug auf das Säuerungsvermögen. Einige koagulieren die Milch in ca. 5 Tagen, andere erst in ein paar Wochen; ausnahmsweise trat die Koagulation erst nach 4 Wochen ein. Der Geschmack ist gewöhnlich scharf sauer, aber angenehm aromatisch.

Diese Art zeigt gute Uebereinstimmung mit *Bact. casei* Leichmann und Bazarewski¹⁾ (*B. α v. Freudenreich*) und ist möglicherweise mit diesem identisch.

Bacterium 16 (Phot. 4) unterscheidet sich von der vorhergehenden Art durch geringere Breite und dadurch, daß es in Molkengelatinekultur oft hauptsächlich in Kurzstäbchenform vorhanden ist. Die Kurzstäbchen sind häufig in sehr langen Ketten vereinigt. In derselben Kultur beobachtet man vereinzelte lange Stäbchen, die sich in kurze Glieder teilen, die in der gegen die Längsachse des ursprünglichen Stäbchens winkelrechten Richtung ihre größte Länge haben. In kulturellen Beziehungen stimmen *Bact. 16* und *Bact. 15* ganz überein. *Bacterium 16* kommt in verschiedenen Käsen ziemlich häufig vor.

Bacterium 17.

Fundort: Käse X, XVI, XVII, XVIII, XIX, XXI, XXII, XXIII, in verschiedenen Kulturen.

Morphologisches: Die Breite des Stäbchens beträgt ca. $0,7\mu$; die gewöhnliche Länge ist $1,5-5\mu$, sehr lange Stäbchen, Fäden und sehr kurze Formen kommen auch vor.

1) Diese Zeitschrift. Bd. VI. No. 8.

Die Kolonien in Molkengelatine sind klein oder mittelgroß. Der Rand ist im allgemeinen scharf. Bei ein paar Stämmen waren die Kolonien am Rande gezackt oder unregelmäßig.

Stichkultur. In Molkengelatine gedeiht das Bakterium gut und gleichmäßig im ganzen Stichkanal. Kein oder kaum sichtbares Oberflächenwachstum.

Strichkulturen. Auf Zuckeragar bildet sich ein zarter Belag, auf Agar ist ein Wachstum kaum zu sehen.

In Zuckerbouillon entsteht bei ca. 20° in 3 Tagen eine schwache Trübung; nach 14 Tagen sieht man wenige Flocken in der beinahe klaren Bouillon.

Milch wird nicht makroskopisch verändert. Die Reaktion bleibt amphoter.

Bacterium 18 = *Bacterium curvatum* n. sp (Phot. 5 und 6.)

Fundort: Käse XII, XV, XVIII, XIX, XXII, XXIII, in verschiedenen Kulturen häufig.

Morphologisches. Die Breite des Stäbchens beträgt ca. 0,5 μ . In Molkengelatine bei Zimmertemperatur besteht die Kultur hauptsächlich aus stark gebogenen Stäbchen; oft liegen zwei Stäbchen mit beiden Enden zusammen und bilden dann einen Ring. Diese Erscheinung ist aber selten; gewöhnlich geben die beiden Stäbchen das Bild von 2 Zirkelkorden, die einander sozusagen gegenüberliegen. In Zuckeragar bei höherer Temperatur bilden sich lange, gerade Stäbchen und Fäden. Von einer alten Zuckeragarkultur, die hauptsächlich aus geraden Stäbchen bestand (die gebogenen waren äußerst selten), wurde eine neue Kultur in Zuckeragar bei 25° angelegt. Nach 3 Umimpfungen bei 25° zeigten sich im mikroskopischen Präparat nur gerade Stäbchen, die gewöhnlich 1—3,5 μ lang waren; auch längere Stäbchen und Fäden kamen vor. Ein Faden maß ca. 35 μ in der Länge. In Zuckeragarstichkultur bei 37° bestand die Kultur nach 2 Tagen aus geraden Stäbchen und Fäden. Stäbchen in einer Länge von 3—5 μ waren gewöhnlich, längere Fäden weniger häufig. Die Stäbchen waren oft in Ketten vereinigt. Die Strichkultur an schräg erstarrtem Zuckeragar bei 37° zeigte nach einem Tage dieselben Formen wie die vorher beschriebene Kultur. Von der Zuckeragarkultur wurde eine Molkengelatineplatte angelegt, die bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Viele von den Kolonien dieser Platte bestanden zum größten Teile aus gebogenen Stäbchen. Einige Kolonien waren von geraden, kurzen, selten gebogenen Formen gebildet. Von einer der vorigen wurde eine Kultur in Zuckeragar, von einer der letzteren eine Molkengelatinekultur angelegt. Die Zuckeragarkultur bestand hauptsächlich aus geraden Stäbchen und langen Fäden, doch waren auch gebogene Stäbchen vorhanden. Die Molkengelatinekultur zeigte sowohl gebogene wie gerade Formen. In oben beschriebener Weise wurden 2 Bakterienstämme mit dem gleichen Resultat untersucht. Die beiden Formen gehen also ineinander über.

Die Kolonien in Molkengelatine sind in der Regel rund, von mittlerer Größe oder etwas größer und von einem scharfen

Rande umgeben. In Zuckeragar werden die Kolonien bei ca. 35° ziemlich groß.

Stichkulturen. In Molkengelatine gedeiht das Bacterium gut und gleichmäßig im ganzen Stichkanal. An der Oberfläche wächst es nicht oder bildet einen sehr geringen Belag an der Einstichöffnung. Die Stichkultur in Zuckeragar ist der Molkengelatinekultur ähnlich. Der Zuckeragar trübt sich allmählich in der ganzen Breite des Rohres in der Länge des Stiches. Die Peptongelatine zeigt ein weniger kräftiges Wachstum als die Molkengelatine.

Strichkulturen. Auf Zuckeragar und Agar bildet sich ein sehr zarter Belag.

In Zuckerbouillon hat sich bei 20° in 3 Tagen unter Trübung der Bouillon ein Bodensatz gebildet.

Milch wird bei saurer Reaktion in kurzer Zeit zur Koagulation gebracht. Der Geschmack ist intensiv sauer.

B. Brachybacterium, Kurzstäbchen, ovale oder ellipsoide Stäbchen, deren Länge nicht mehr als die doppelte Breite beträgt, runde Formen kommen neben den Stäbchenformen vor.

α) Gelatine verflüssigend.

Brachybacterium 19.

Fundort: Verschiedene von den Käsen a—g, Käse X, XII, XIV.

Morphologisches. Die Breite des Kurzstäbchens beträgt 0,6—0,8 μ . Es werden oft Ketten gebildet, deren Glieder von Kokkenform sind. Die Kurzstäbchen kommen oft zu zweien vor.

Die Kolonien in Gelatine sind gut begrenzt und von einem Hof verflüssigter Gelatine umgeben.

Stichkultur. Die Molkengelatine sowie die Peptongelatine wird sehr stark verflüssigt.

In Zuckerbouillon gedeiht das Bacterium sehr gut und bildet Flocken.

Milch wird bei saurer Reaktion schnell zur Koagulation gebracht. Es wird sehr viel Molke ausgeschieden; wahrscheinlich wird das Kasein zum Teil gelöst. Der Geschmack ist sauer und bitter.

Brachybacterium 20 ist dem B. 19 sehr ähnlich, unterscheidet sich aber in der Milchkultur. Die Milch wird von Bact. 20 unter Ausscheidung von Molke koaguliert, die Reaktion ist aber alkalisch. Der Geschmack ist unangenehm.

β) Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Gutes Oberflächenwachstum in Stichkultur.

Brachybacterium 21.

Fundort: Käse XII und XXIII.

Morphologisches. Sowohl Kokken- wie Kurzstäbchenformen kommen vor. Die Individuen sind oft zu zweien vereinigt. Die Breite beträgt 0,5—0,7 μ .

Die Kolonien in Molkengelatine sind von mittlerer Größe; sie sind rund, linsenförmig oder wenig unregelmäßig. Der Rand ist scharf.

Die Stichkultur in Molkengelatine zeigt gutes, gleichmäßiges Wachstum im ganzen Stichkanal, an der Oberfläche ein nicht starker Belag.

In Zuckerbouillon entsteht bei ca. 20° in einem Tage schwache Trübung, nach 3 Tagen ist die Trübung stark und ein Sediment hat sich abgelagert.

Milch wurde in kurzer Zeit bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht.

In Käse XIII wurde ein Bacterium gefunden, das dem oben beschriebenen ähnlich war, sich aber darin unterschied, daß es die Milch nur etwas säuerte, nicht aber zur Koagulation brachte.

γ) Kein oder sehr geringes Oberflächenwachstum.

Brachybacterium 22 = Bacterium lactis acidii (Leichmann), **Bacterium lactis** (Lister).

Fundort. Dieses Bacterium scheint eine der in den untersuchten Käsen am häufigsten vorkommenden Arten zu sein. Es ist so gut charakterisiert, daß ich es nicht für notwendig finde, dessen Beschreibung zu wiederholen.

Es sei mir aber erlaubt, ein paar Bemerkungen anzuführen in Bezug auf ein Referat von Appel¹⁾ über meine „Studien über saure Milch und Zähmilch“²⁾, das in dieser Zeitschrift erschienen ist. Appel schreibt: „... das von Leichmann zuerst beschriebene Kurzstäbchen...“, das jedoch nach den Regeln der Nomenklatur *Bacterium Güntheri* Lehm. et Neum. heißen muß.“ Ich möchte hierzu bemerken, daß ich nicht die erste Beschreibung von diesem Kurzstäbchen Leichmann zugeschrieben habe. Ich habe im Gegenteil auf die Priorität von Storch³⁾ bezüglich der „guten Beschreibungen“ dieser kollektiven Bakterienart hingewiesen. Mit „guter Beschreibung“ habe ich eine solche gemeint, in der Rücksicht auf die kulturellen Verhältnisse im festen Nährboden genommen wird. Die Frage, wer der Entdecker dieses Mikroorganismus sei, habe ich nicht berührt. Wer die Arbeit Listers aus dem Jahre 1878 über diese Frage⁴⁾ liest, zweifelt aber nicht daran, daß er dieses Bacterium reinkultiviert hat. Man könnte dagegen einwenden, daß er nicht mit festem Nährboden gearbeitet hat, und daß das Isolieren in Nährflüssigkeiten unsicher ist. Dies ist im allgemeinen wahr, aber es bietet auch das Kochsche Plattenverfahren keine absolute Sicherheit der Reinkultur. Nur durch wiederholtes Umgießen gewinnt man einen sehr hohen Grad von Wahrscheinlichkeit, daß man eine Kultur erhält, die aus einer ein-

1) Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 262.

2) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XXXII. p. 361.

3) Attende Beretning fra den Kgl. Veterinaer og Landbohojskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsøg 1890. (Die Arbeit von Leichmann erschien 1894.)

4) Transactions of the Pathological Society. Vol. XXIX. 1878. p. 425.

zigen Zelle stammt. Lister wendet seine gut ausgearbeitete Tröpfchenmethode bei solchem Material wiederholt an, das er auf dieselbe Methode reinkultiviert und mikroskopisch kontrolliert hat; dadurch erreicht er auch eine sehr große Wahrscheinlichkeit, das Bacterium in Reinkultur zu haben. Wenn ich also der Regel der Nomenklatur gefolgt sein wollte, würde ich das Kurzstäbchen *Bacterium lactis* (Lister) genannt haben. Da dieser Name in der Literatur fast vergessen zu sein scheint, so wäre aber beinahe diesem Kurzstäbchen ein neuer Name zu geben. Da dieses Kurzstäbchen im Jahre 1896 schon mit 3 Namen ausgestattet worden ist: *B. lactis acidii*¹⁾ (Leichmann), *B. Güntheri* (Lehm. et. Neum.), *B. lacticus* (Flügge), scheint es aber Luxus zu sein, einen neuen Namen hinzuzufügen. Die 2 Namen *B. Güntheri* und *B. lacticus* sind in nicht datierten Lehrbüchern erschienen. Ich finde es deshalb berechtigt, den Namen *B. lactis acidii* (Leichmann) anzunehmen (zumal da Leichmann großes Verdienst um das Studium dieser Bakterienart hat), wenn man nicht zum Namen *B. lactis* zurückkehren will. Der Name *B. lactis acidii* ist wohl jetzt der allgemein gebrauchte.

Migula kommt in seinem „System der Bakterien“ p. 24 und 25 zu einer ganz anderen Anschauung der Arbeiten Listers, als die oben angeführte. Er sagt u. a.: „Demgemäß ist ihm (Lister) auch die Artberechtigung seines *Bact. lactis*, dessen verschiedenartige Wandlungen er an dem Milchtropfen verfolgt hatte, „sehr zweifelhaft“. Migula zitiert aber nur die älteren Arbeiten Listers aus den Jahren 1872 und 1873, und nicht die Arbeit von 1878, wo Lister seine früheren Untersuchungen vervollständigt und über die endgültige Isolierung des Kurzstäbchens berichtet. Die Anschauung Migulas findet dadurch leicht ihre Erklärung, daß er die vollständige Arbeit Listers nicht gekannt habe.

Brachybacterium 23.

Fundort: Käse XVI, XXII, XXIII.

Morphologisches. Dieses Bacterium steht dem *Brachybacterium lactis acidii* sehr nahe, unterscheidet sich aber von diesem durch geringes Oberflächenwachstum im StICKkultur.

Es ist ein Kurzstäbchen von der Breite 0,7—0,8 μ , kommt selten einzeln, sondern gewöhnlich zu zweien oder in kürzeren Ketten vor.

Die Kolonien in Molkengelatine sind klein oder höchstens mittelgroß und scharf umrandet.

StICKkulturen. In Molkengelatine gedeiht diese Art gut und gleichmäßig im ganzen StICKkanal. An der Oberfläche ist bei genauer Beobachtung ein sehr geringer Belag bei der Einstichöffnung zu sehen.

In Zuckerbouillon bildet sich bei 20° in 1 Tage schwache Trübung, in 4 Tagen ist die Bouillon stark getrübt.

Milch wird bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht.

1) Diese Zeitschrift. Bd. II. p. 778.

Brachybacterium 24.

Fundort: Käse IV, XV, XVI, XVII.

Morphologisches. Die Breite des Kurzstäbchens beträgt 0,5–0,7 μ (gewöhnlich 0,5 μ), es kommt selten einzeln, gewöhnlich zu zweien, zuweilen in kurzen Ketten vor.

Die Kolonien in Molkengelatine sind rund oder wenig unregelmäßig. Der Rand der eingeschlossenen Kolonien ist scharf; die Oberflächenkolonien breiten sich zuweilen ein wenig aus und werden dann am Rande diffus.

Stichkultur. In Molkengelatine gedeiht das Bacterium gut und gleichmäßig im ganzen Stichkanal. An der Oberfläche sehr geringes Wachstum.

Milch wird makroskopisch nicht verändert. Die Reaktion bleibt amphoter.

Es sind Bakterienstämme isoliert worden, die dem *Brachybacterium* 24 und 23 ähnlich sind, sich aber in Milchkultur verschieden verhalten, indem sie die Milch sauer machen, ohne sie vollständig zur Koagulation zu bringen.

Brachybacterium 25.

Fundort: Käse XXIII, wahrscheinlich auch in anderen Käsen vorhanden.

Möglicherweise mit *Brachybacterium* 23 identisch, kommt aber oft in sehr kurzen und runden Formen vor. Der Geschmack der Milchkultur erinnert an Apfelester.

***Brachybacterium* 26 *apiculatum* n. sp. (Phot. 7.)**

Fundort: Käse XIII, XIV, XIX, XXII, in letzterem ziemlich häufig, kommt wahrscheinlich auch in anderen Käsen vor.

Morphologisches. Die Breite des Kurzstäbchens beträgt ca. 0,8 μ . Die Kurzstäbchen sind gewöhnlich zugespitzt und erreichen zuweilen eine Länge, die gleich der doppelten Breite ist, sie kommen oft zu zweien, selten in kurzen Ketten vor.

Die Kolonien in Molkengelatine sind von Mittelgröße, rund oder wenig unregelmäßig. Der Rand ist scharf.

Stichkulturen. In Molkengelatine, sowie in Peptongelatine gedeiht das Kurzstäbchen gut und gleichmäßig im Stichkanal. Kein oder sehr geringes Wachstum an der Oberfläche.

In Zuckerbouillon bildet sich in 3 Tagen ein Bodensatz. Die Bouillon ist ziemlich klar.

Milch wird unter Säuerung rasch zur Koagulation gebracht.

Brachybacterium 27.

Fundort: Käse XV, XVIII, XIX, wahrscheinlich in Käse IX.

Morphologisches. Diese Art scheint der Form nach dem *Streptococcus casei* Leichmann und Razarewski¹⁾ ähnlich zu sein. Die Form der Zellen ist sehr unregelmäßig, oft weder rund noch kurzstäbchenförmig, nicht selten beinahe dreieckig. Da das mikroskopische Bild, wie auch Leichmann für *Streptococcus*

1) Diese Zeitschr. Bd. VI. p. 316.

casei bemerkt, eine gewisse Aehnlichkeit mit *B. lactis acidii* zeigt, und Formen vorkommen, deren Durchmesser in verschiedenen Richtungen von ungleicher Größe sind, habe ich die Art unter den Brachybakterien angeführt. Die Individuen kommen einzeln und zu zweien vor. Der Durchmesser derselben beträgt 0,5—0,8 μ .

Die Kolonien in Molkengelatine werden mittelgroß. Sie sind gewöhnlich rund oder wenig unregelmäßig in der Form. Der Rand ist scharf.

Stichkulturen. In Molkengelatine gedeiht das Brachybacterium gleichmäßig und ziemlich gut im ganzen Stichkanal. Kein Oberflächenwachstum. Die Stichkultur in Peptongelatine zeigt schwaches Wachstum im Stichkanal.

Strichkultur. Auf Zuckeragar bei 25° ziemlich gutes Wachstum; bei 37° ist das Wachstum schwach.

In Zuckerbouillon hat sich bei 20° in 3 Tagen ein Bodensatz unter schwacher Trübung der Bouillon gebildet.

Milch wird makroskopisch nicht verändert. Die Reaktion bleibt amphoter.

In Käse XXIII wurde eine Art gefunden, die *B. 27* ähnlich ist, die aber die Milch bei 23—26° in 9 Tagen unter Säuerung zur Koagulation brachte, also wahrscheinlich mit *Streptococcus casei* identisch ist.

C. Kokken.

a) Streptokokken.

Streptococcus 28.

Fundort: Käse XIII, XXII.

Morphologisches. Der Durchmesser des Coccus beträgt 1—1,5 μ . Kurze Ketten kommen häufig vor.

Die Kolonien in Molkengelatine sind von mittlerer Größe, rund oder ein wenig unregelmäßig in der Form. Der Rand ist scharf oder wenig diffus.

Die Stichkultur in Molkengelatine zeigt gleichmäßiges, ziemlich gutes Wachstum im Stichkanal; kein Oberflächenwachstum. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Milch wird makroskopisch nicht verändert. Die Reaktion bleibt amphoter.

Diese Art zeigt große Uebereinstimmung mit *Streptococcus albidus* Henrici.

Streptococcus 29.

Fundort: Käse XV, XVII, XVIII, XIX, XXI, XXII, scheint ziemlich häufig zu sein.

Morphologisches. Der Durchmesser des Coccus beträgt gewöhnlich 0,5—0,8 μ , erreicht aber ausnahmsweise höhere Werte. Die Kokken kommen gewöhnlich zu zweien oder in Ketten vor. Kurze Ketten von 4—6 Gliedern sind häufig. Diese Glieder sind oft in der Längsrichtung der Ketten verkürzt.

Die Kolonien in Molkengelatine sind klein bis mittelgroß, rund oder wenig unregelmäßig in der Form. Der Rand ist scharf oder wenig diffus.

Stichkultur. In Molkengelatine gedeiht der *Coccus* gleichmäßig und gut im ganzen Stichkanal. Geringes Oberflächenwachstum. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Milch wird bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht. In Säuerungskraft sind die Stämme dieser Art sehr verschieden. Einige koagulieren bei 30° die Milch in 2 Tagen, ein Stamm erst nach etwa 2 Wochen. Molke wird ausgeschieden. Der Geschmack der geronnenen Milch variiert; ein paar Stämme machen die Milch etwas bitter, andere geben ihr einen Geschmack, der an Essig erinnert, aber kein reiner Essiggeschmack ist. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Ueberwinterung des *Oidium Tuckeri*.

[Vorläufige Mitteilung.]

Von Regierungsrat Dr. Appel.

Mit 1 Figur.

Trotzdem das *Oidium* seit Jahren unserem Weinbaue schwere Schäden zufügt, ist seine Biologie noch nicht genügend bekannt. Besonders gilt dies von der Art seiner Ueberwinterung, über die wir durchaus noch nicht im Klaren sind.

Wortmann, der durch seine Schilderung des ersten Auftretens des Pilzes im Frühjahr¹⁾ die ganze Frage von neuem angeregt hat, hält es für wahrscheinlich, daß die Ueberwinterung durch Mycel in den Knospen der Rebe stattfindet. Er schließt dies daraus, daß bei dem ersten Auftreten im Frühjahr der Pilz einzelne Sprosse ganz überzieht, und glaubt, daß dies dadurch zustande kommt, daß die einzelnen Teile des Sprosses schon in der Knospe infiziert werden. Aber ebensowenig wie Wortmann ist es mir trotz vielen Untersuchungen gelungen, in den Knospen irgendwelche Teile des Pilzes zu finden.

Behrens²⁾ scheint für *Peronospora* und *Oidium* in gleicher Weise anzunehmen, daß eine Ueberwinterung des Mycel und der Konidien auf dem Laube oder Stocke stattfindet und daß von da aus im Frühjahr die Infektionen ihren Ausgang nehmen. Darauf deutet hin, daß er im Verlaufe des Winters und seines Einflusses auf die Vermoderung des Laubes ein wesentliches Moment für die Ausbreitung dieser Pilzkrankheiten der Rebe sieht.

Lüstner³⁾ endlich, der als erster die Perithezienform des *Oidiums*, *Uncinula spiralis*, für Deutschland nachgewiesen hat, scheint auf Grund dieses Fundes dazu zu neigen, dieser Form die Ueberwinterung des *Oidiums* zuzuschreiben.

Durch das außerordentliche Entgegenkommen des Herrn Reichsrates Dr. von Buhl und des Herrn Franz Buhl war es mir möglich, mehrere Jahre hindurch Beobachtungen über das Auftreten des Aescherichs in Deidesheim und Umgegend zu machen.

1) Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1900.

2) Weinbau und Weinhandel. 1899.

3) Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. 1900.

Dabei fand ich nicht nur die Angaben Wortmanns bestätigt, sondern diese erfuhren insofern eine Erweiterung, als es sich herausstellte, daß die Ueberwinterung an ganz bestimmten Stöcken stattfindet. Herr Franz Buhl hatte schon seit mehreren Jahren beobachtet, daß einzelne Stöcke stets zuerst von *Oïdium* befallen werden, und daß diese Stöcke jahrelang für seine Gegend stets die ersten *Oïdium*stöcke darstellten. Diese Tatsache läßt darauf schließen, daß unter gewissen günstigen Verhältnissen regelmäßig eine Ueberwinterungsform des Pilzes gebildet werden muß. Diese Form kann aber nicht auf den absterbenden Blättern und jungen Trieben überwintern, da von diesen Teilen schon lange vor Beginn der Vegetation nichts mehr zu finden war, auch wäre es höchst merkwürdig, wenn anfliegende Konidien stets auf demselben Stocke zur Keimung gelangten. Auch die Annahme, daß Perithezien die Ueberwinterung in diesen beobachteten Fällen übernehmen, scheint ausgeschlossen, da nach den Ausführungen Negers¹⁾, die *Uncinula spiralis* zu den Erysipheenperithezien gehören muß, die sich vor der neuen Vegetationsperiode von ihrem Entstehungsorte loslösen.

Diese Ueberlegung, wie die Tatsache, daß ein Anstrich der Reben im Winterzustande mit einer Lösung von Eisenvitriol Primärinfektionen nicht zum Ausbruche gelangen läßt, machten es mir wahrscheinlich, daß von *Oïdium Tuckeri* noch eine Ueberwinterungsform vorhanden sein müsse, die bisher übersehen worden ist.

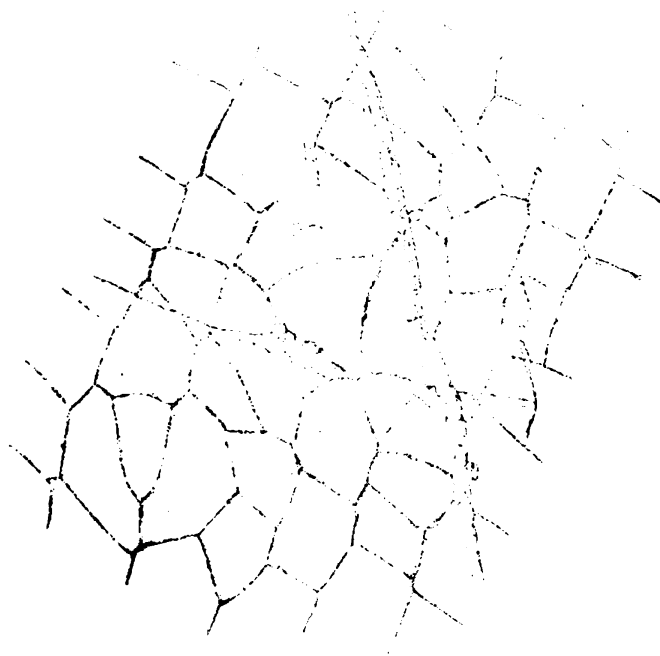
Diese Wirkung der Winterbekämpfung beobachtete ich an Hausstöcken in Groß-Lichterfelde, die jahrelang Primärinfektionen getragen hatten, sowie in der Gemarkung Dürkheim a. H., wo ich eine ganze Lage, die im Frühjahr 1901 zahlreiche Erstinfektionen gezeigt hatte, im Februar 1902 bestreichen ließ. Noch Ende Juni 1902 war diese Lage *Oïdium*frei, während in anderen Lagen einzelne Stöcke schon ganz grau waren.

Im Februar dieses Jahres gelang es mir nun an Weinstöcken, die in einer Zelle des Infektionshauses auf dem Versuchsfelde des Kaiserl. Gesundheitsamtes in Dahlem stehen und die im vorigen Jahre stark mit *Oïdium* besetzt waren, eigentümliche Ueberwinterungsformen zu finden, die meines Wissens noch nicht bekannt sind. Auf den typischen rotbraunen Flecken, die an den einjährigen Reben vom *Oïdium* erzeugt werden, fanden sich eigentümliche Mycelfäden, die eine Häufung von unregelmäßig ausgebildeten Haustorien zeigten (siehe Fig. p. 145). Statt der einzelnen Haustorien waren knorrige Anschwellungen sichtbar, die bald zu 2—3, bald bis zu 8 dick bei einander entwickelt waren. Der Teil des Mycelfadens, der ihnen zunächst lag, war in seinen Membranen etwas verdickt und unregelmäßig. An den Stellen aber, an denen das Mycel wieder regelmäßig wurde, war dies abgestorben; auch lagen in dem Gesichtsfelde gewöhnlich abgestorbene Konidien.

Es fragte sich nun erstlich, ob derartige Bildungen auch im Freien vorhanden sind, und weiter, ob von denselben eine neue

1) Flora 1901.

Vegetation des Pilzes ihren Ausgang nimmt. Daß ersteres der Fall ist, konnte kurz darauf an Hausstöcken in Groß-Lichterfelde nachgewiesen werden, an denen sich, wenn auch spärlich, genau dieselben Formen, wie an den Gewächshausstöcken fanden. Aber auch im eigentlichen Weinbaugebiete gelang mir der Nachweis derselben und zwar in den letzten Tagen des Mai 1903 in der Gemarkung Bergzabern. Hier konnte ich auch den Zusammenhang der Neuinfektionen mit diesen Ueberwinterungsformen nachweisen. Aus den alten Mycelfäden sprossen junge Mycelfäden mit normal ausgebildeten Haustorien hervor, die vereinzelt Konidien abschnürten. Dabei konnte man erkennen, daß die alten Mycelstücke



ihr Protoplasma verloren und dann einschrumpften. In der Gemarkung Deidesheim, wo die Entwicklung schon mehr fortgeschritten war, war der Zusammenhang nicht mehr deutlich erkennbar, aber es mußte auffallen, daß an zahlreichen Trieben von Stöcken, die als Träger von Erstinfektionen bekannt waren, kleine, mit bloßem Auge noch nicht erkennbare Oidiumvegetationen sich fanden, die stets am Grunde des Triebes begannen.

Danach muß es als erwiesen erachtet werden, daß das Oidium vegetativ überwintern kann, indem sich einzelne Mycelstücke auf dem neuen ausgereiften Holze besonders kräftig entwickeln, wobei sie zahlreiche, sehr kräftige, unregelmäßige Haustorien bilden. Im Frühjahr wachsen diese Mycelstücke zu normalem Mycel aus, dessen Konidien die Neuinfektion herbeiführen.

Nachdruck verboten.

Ueber normale und intramolekulare Atmung der einzelligen Alge *Chlorothecium saccharophilum*.

Von Prof. Dr. W. Palladin, St. Petersburg.

Mit 2 Tafeln.

Die Untersuchungen der niederen einzelligen Pflanzenorganismen haben der Physiologie sehr viel an wertvollem Material beigetragen. Diese Untersuchungen sind fast ausschließlich mit den Bakterien und Hefen, d. h. mit Mikroorganismen, welche meistens als enge (einseitige) Spezialisten erscheinen, gemacht worden. Darum kann man die Tatsachen aus der Physiologie der niederen chlorophylllosen Pflanzen nur mit großer Vorsicht auf die höheren Samenpflanzen verallgemeinern.

Bei den physiologischen Untersuchungen der Samenpflanzen ist es in vielen Fällen unbedingt erforderlich, sich an die Methode der Reinkulturen zu halten, was mit vielen Schwierigkeiten verbunden ist. Da sind es denn die Algen, welche ihren physiologischen Eigenschaften nach den Samenpflanzen nahestehen und deren einzellige Formen man leicht in Reinkulturen erhalten kann. Leider haben wir bis jetzt noch eine sehr geringe Anzahl von Arbeiten über Reinkulturen der Algen aufzuweisen. Beijerinck¹⁾ war der erste, der sich an die Methode der Reinkultur bei der Erforschung der Algen hielt. Die nächsten Arbeiten verdanken wir Krüger²⁾, Artari³⁾, Etard und Bouillac⁴⁾, Radais⁵⁾, Matruchot und Molliard⁶⁾, Grintzesko⁷⁾ und einigen andern Verfassern.

Bei meinen Versuchen habe ich mich der von Krüger entdeckten Alge *Chlorothecium saccharophilum* bedient. Gezüchtet habe ich die Alge in einer Nährsalzlösung folgender Zusammensetzung:

Wasser	1000	g
Ammoniumphosphat	4,7	„
Kaliumphosphat	3	„
Magnesiumsulfat	1	„
Calciumchlorid	1	„
Eisenchlorid	Spuren	

In der genannten Nährsalzlösung wurden in einer $\frac{n}{4}$ -Lösung folgende Stoffe zugefügt: Glykose, Saccharose, Raffinose oder Mannit. Folglich waren die Lösungen rein isotonisch. In einigen

1) Beijerinck, Bot. Zeitung. 1890.

2) Krüger, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Herausg. von Prof. W. Zopf. 1894. Heft 4.

3) Artari, Bull. de la soc. Imp. des Natur. de Moscou. 1899. — Berichte d. deutschen bot. Gesellschaft. 1901. 1902. — Zur Frage über die Einwirkung des Mediums auf die Form und Entwicklung der Algen. Moskau 1903. [Russisch.]

4) Etard et Bouillac, Comptes rendus. T. CXXIV. 1898. No. 2.

5) Radais, Comptes rendus. T. CXXX. 1900. No. 12.

6) Matruchot et Molliard, Revue générale de botanique. 1902.

7) Grintzesko, Revue générale de botanique. 1903.

Fällen wurde das phosphorsaure Ammoniak durch 1 Proz. Pepton ersetzt, einige Mal sogar kohlensaures Calcium zugefügt. Die Flüssigkeit wurde in dünnen Schichten (von 1 cm) in kleine Erlenmeyersche Kolben (von 150—200 ccm Inhalt) eingegossen. Die Entwicklung der Algen setzte sich fortwährend in diffusem Lichte fort.

Die Atmung und Gärung der Algen ist bisher noch von niemand erforscht. Was das *Chlorothecium* anbetrifft, so wissen wir nur, daß es in einem sauerstofffreien Raume nicht gedeihen kann.

Die im folgenden beschriebenen Versuche zerfallen in 2 Serien. In der ersten Serie wurde die Menge von Kohlensäure, die von der Alge in der Luft oder einem sauerstofffreien Raume bei den verschiedenen Nahrungssubstanzen sich ausscheidet, bestimmt. In der zweiten Serie wurde die Größe der Atmungskoeffizienten $\left(\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}\right)$ der

Alge festgestellt. In beiden Fällen habe ich mich der Methode der Rollkulturen bedient. In der ersten Serie der Versuche bediente man sich für Rollkulturen der Cylinder mit schmalerem Halse, versehen mit einem Kautschukkork mit 2 gebogenen und in der oberen Hälfte mit Watte verschlossenen Röhren (Fig. 4, Taf. II). Die Cylinder waren von zweierlei Größe, von 350 und 650 ccm Inhalt. Anstatt der Cylinder wurden auch große Probierröhren von 570 ccm und niedrige Erlenmeyersche Kolben von je 2 l gebraucht. Alle Seiten der Gefäße wurden mit einer dünnen Schicht der Nährmischung mit Gelatine von 12 Proz. bedeckt. Danach wurde einige Menge der in Nährlösung derselben Zusammensetzung, wie das Gelatinesubstrat, erzeugten Reinkultur der Algen in das Gefäß gegossen und möglichst gleichmäßig an allen Wänden des Gefäßes verteilt¹⁾. Während der Entwicklung der Algen wurden die Rollkulturen in diffusem Licht, von einem Luftzuge durchströmt, aufbewahrt. Als alle Wände des Gefäßes sich mit einem grünen Teppich der Algen bezogen hatten, wurde es mit Pettenkofferschen Röhren vereint. Der ganze Apparat war so zusammengestellt, wie es von Pfeffer²⁾ beschrieben ist. Anstatt des Mariotteschen Gefäßes bediente man sich einer Wasserluftpumpe mit Regulator. Während des Versuches wurden die Rollkulturen mit schwarzem Tuche bedeckt. Zuerst wurde durch den Apparat die von Kohlensäure gereinigte Luft durchgelassen. Die Menge der in gewissem Zeitraum von den Algen an der Luft ausgeschiedenen Kohlensäure wurde in allen Versuchen = 100 genommen. Danach wurde durch den Apparat der von allen Beimischungen gereinigte Wasserstoff durchgelassen. Nach mehr oder weniger langem Wasserstoffdurchzuge (bis 6 Tage) durch den Apparat wurde wieder Luft zugelassen.

Um sich eine Vorstellung von der Größe des Atmungskoeffi-

1) Buchner, E., Buchner, H. und Hahn, M., Die Zymasegärung. 1903. p. 350.

2) Pfeffer, Untersuchungen aus dem bot. Institut zu Tübingen. Bd. I. 1885. Heft 4.

zienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ zu bilden, wurden Rollkulturen in gewöhnlichen, unten mit Kautschukkorken und Quecksilber geschlossenen Probierröhrchen hergestellt. Das Gas wurde in einem Polowzowschen¹⁾, von Richter²⁾ veränderten Apparate analysiert.

Versuch I.

Nährlösung + Glykose. Impfung mit Material aus einer jungen Kultur. Entwickelte Rollkultur in großem Cylinder von grüner Farbe. Dauer des Versuches 80½ Stunden (vom 31. Mai bis 4. Juni).

Gas	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	2 Stunden	9,2	} 4,9	100,0	23—24 °
"	2 "	10,4			
Wasserstoff	1 Stunde	8,8	2,5	51,0	23—24 °
"	3½ Stunden	17,2	1,1	22,4	23—24 °
"	15½ "	22,4	1,2	24,4	23—25 °
"	17½ "	9,0	1,0	20,4	25 °
Luft	1½ Stunde	17,2	6,9	140,8	23—24 °
"	2½ Stunden	26,6	8,9	181,8	23—24 °
"	3 "	18,4	4,6	93,9	22—22,5 °
"	15½ "	20,4	4,1	83,7	22—22,5 °
"	4 "				
"	5 "				

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve 1, Taf. I.

Versuch II.

Nährlösung + Glykose + Pepton. Impfung aus einer alten Kultur. Rollkultur in Erlenmeyerschen Kolben von grünlich-gelber Farbe. Dauer des Versuches 78 Stunden 25 Minuten (vom 30. April bis 4. Mai).

Gas	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	1 Stunde	10,0	} 9,2	100,0	20,5 °
"	1 "	8,4			
Wasserstoff	40 Minuten	18,4	7,3	79,3	20,5 °
"	2½ Stunden	0,8	0,6	6,5	19 °
"	18 "	0,8	0,6	6,5	19 °
"	1½ Stunde	1,2	0,4	4,3	18,5 °
"	1½ "	6,0	4,0	43,4	18,5 °
Luft	3 Stunden	18,4	6,1	66,3	18,5 °
"	15 "	20,8	6,0	62,5	18—19 °
"	3½ "	23,6	7,8	84,7	19—20 °
"	3 "				

1) Polowzow, Untersuchungen über die Pflanzenatmung. St. Petersburg 1901. [Russisch.]

2) Richter, Protokoll d. St. Petersburger Naturf. Gesellsch. Sekt. Botanik. 1903.

Versuch III.

Nährlösung + Glykose + Pepton + kohlensaures Calcium. Impfung aus einer alten Kultur. Rollkultur in großem Probierrohre von gelber Farbe. Dauer des Versuchs 54 Stunden 55 Minuten (vom 31. Mai bis 3. Juni).

Gas	Dauer des Versuches	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	3 Stunden	12,8	4,3	100,0	23—24 °
Wasserstoff	55 Minuten				
"	3½ Stunden	3,2	0,9	20,9	23—24 °
"	15½ "	5,6	0,36	8,3	23—24 °
"	17½ "	5,6	0,32	7,4	23—24 °
"	9 "	Spuren	0	0	23—24 °
Luft	½ Stunde				
"	2 Stunden	10,0	5,0	116,2	23—24 °
"	3 "	10,2	3,4	80,0	23—24 °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve 2 Taf. II.

Versuch IV.

Nährsalzlösung + Saccharose. Impfung aus einer jungen Kultur. Rollkultur in großem Probierrohre von lebhaft grüner Farbe. Dauer des Versuchs 195½ Stunden (vom 13. bis 21. Mai).

Gas	Dauer des Versuches	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	5½ Stunden	21,2	3,9	100,0	21 °
Wasserstoff	14½ "				
"	8 "	8,2	1,0	25,6	20—21 °
"	16 "	12,6	0,8	20,5	20—21 °
Luft	½ Stunde	—			
"	2 Stunden	17,2	8,6	220,5	20 °
"	2 "	15,2	7,6	194,8	20 °
"	3 "	19,2	6,4	164,1	20 °
"	18½ "	84,4	4,5	115,3	20 °
Wasserstoff	30 "				
"	24 "	10,4	0,93	11,0	20 °
"	16 "	Spuren	0	0	20 °
Luft	1 Stunde				
"	2 Stunden	17,8	8,9	228,2	18—19,5 °
"	3½ "	22,8	6,5	166,6	18—19,5 °
"	25 "				
"	24 "	84,8	3,6	92,3	18—19,5 °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve 2, Taf. I.

Versuch V.

Nährsalzlösung + Saccharose. Impfung aus einer jungen Kultur. Rollkultur in großem Cylinder von lebhaft grüner Farbe. Dauer des Versuches 272 Stunden 15 Minuten (vom 5. bis 13. Mai).

Gas	Dauer des Versuchs	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	3½ Stunden	38,9	12,1	100,0	19 °
"	1 Stunde	12,3			
Wasserstoff	1 "	9,4	2,4	20,0	19 °
"	3½ Stunden				
"	2 "	4,0			
"	14 "				
"	50 "	27,0	0,54	4,4	18 °
"	72 "	16,8	0,23	1,9	20 °
"	23 "	Spuren	0	0	20 °
Luft	1 Stunde	5,2	1,5	12,4	18 °
"	3½ Stunden				
"	28 "	7,6	0,27	2,2	18 °
"	70 "	Spuren	0	0	21 °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve 3, Taf. II.

Versuch VI.

Nährsalzlösung + Raffinose. Impfung aus einer jungen Kultur. Rollkultur in großem Probierrohre von intensiv grüner Farbe. Dauer des Versuches 168 Stunden (vom 9. bis 15. Mai).

Gas	Dauer des Versuches	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 24 Stunden	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	24 Stunden	11,6	11,6	100,0	19,5 °
Wasserstoff	1½ Stunde	0,8	0,9	7,0	18,5 °
"	21½ Stunden				
"	25½ "	Spuren	0	0	20 °
Luft	1 Stunde	6,4	51,2	441,3	18—19 °
"	3 Stunden				
"	3½ "	7,6	52,1	448,2	18—19 °
"	16½ "	20,4	29,6	253,1	19 °
"	8 "	6,4	19,2	165,5	20 °
"	15½ "	12,0	18,5	159,5	21 °
"	24 "	19,6	19,6	168,9	21—22 °
"	24 "	19,2	19,2	165,5	20 °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve 3, Taf. I.

Versuch VII.

Nährsalzlösung + Raffinose. Impfung aus einer jungen Kultur. Rollkultur in kleinem Cylinder von intensiv grüner Farbe. Dauer des Versuches 171 Stunden (vom 21. bis 27. Mai).

Gas	Dauer des Versuches	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 24 Stunden	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	24 Stunden	8,4	8,4	100,0	19 °
Wasserstoff	24½ "	Spuren	0	0	19, °
"	24 "				
Luft	½ Stunde	33,6	38,4	457,1	22,5 °
"	21 Stunden				
"	31 "	24,0	18,5	220,2	23 °
"	17 "	13,2	18,5	220,2	23 °
"	29 "	22,8	18,1	215,4	21 °

Versuch VIII.

Nährsalzlösung + Mannit. Impfung aus einer jungen Kultur. Rollkultur in großem Erlenmeyerschen Kolben von intensiv grüner Farbe. Dauer des Versuches 185 Stunden (vom 21. bis 30. April).

Gas	Dauer des Versuches	Menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	CO ₂ in Proz.	Temperatur
Luft	$\frac{1}{2}$ Stunde	12,8	} 24,4	100,0	19 °
"	$\frac{1}{2}$ "	11,6			
Wasserstoff	1 "				
"	$\frac{1}{2}$ "	6,0	12,0	49,1	19 °
"	1 "	8,0	8,0	32,7	19 °
"	2 St. 45 Min.				
"	1 Stunde	3,6	3,6	14,7	19 °
"	14 Stunden				
"	$2\frac{1}{2}$ "	0,8	0,32	1,3	18 °
Luft	45 Minuten				
"	$1\frac{1}{2}$ Stunde	10,8	} 5,8	23,7	18 °
"	$2\frac{1}{2}$ Stunden	10,8			
"	1 Stunde	17,2	} 16,8	68,8	17 °
"	1 "	16,4			
Wasserstoff	1 "	9,2	} 9,6	39,3	17 °
"	1 "	12,4			
"	2 Stunden	14,8			
"	$18\frac{1}{2}$ "				
"	3 "	3,2	1,1	4,5	19 °
"	20 St. 15 Min.				
"	3 Stunden	2,0	0,6	2,4	20 °
"	22 St. 45 Min.				
"	4 Stunden	4,4	1,1	4,5	21 °
"	$30\frac{1}{2}$ "				
"	2 "	0,8	0,4	1,6	20 °
Luft	$2\frac{1}{2}$ "	10,8	4,4	18,0	20 °
"	$3\frac{1}{2}$ "	48,4	13,8	56,5	20 °
"	14 St. 45 Min.				
"	2 Stunden	79,6	39,8	163,1	20,5 °
"	40 Minuten	23,6	35,4	145,4	20,5 °
"	50 Minuteu	29,6	35,5	145,4	20,5 °
"	22 Stunden				
"	1 Stunde	21,2	21,2	86,4	20 °

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet auf der Kurve 1, Taf. II.

Versuch IX.

Nährsalzlösung + Mannit. Rollkultur in kleinem Probierrohre.

1) CO₂ = 12,44 Proz.; O₂ = 7,48 Proz.; N₂ = 80,08 Proz.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,90^1).$$

2) CO₂ = 12,66 Proz.; O₂ = 7,51 Proz.; N₂ = 79,83 Proz.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} + 0,92.$$

Versuch X.

Nährsalzlösung + Maltose.

1) CO₂ = 13,85 Proz.; O₂ = 6,25 Proz.; N₂ = 80,00 Proz.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,92.$$

1) Bonnier et Mangin, Annales des sciences naturelles. Botanique. Série VI. T. XIX. 1884.

2) $\text{CO}_2 = 13,70$ Proz.; $\text{O}_2 = 6,56$ Proz.; $\text{N}_2 = 79,74$ Proz.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,93.$$

Versuch XI.

Nährsalzlösung + Saccharose.

$\text{CO}_2 = 17,1$ Proz.; $\text{O}_2 = 2,9$ Proz.; $\text{N}_2 = 80,0$ Proz.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,93.$$

Versuch XII.

Nährsalzlösung + Glykose + Pepton.

$\text{CO}_2 = 12,49$ Proz.; $\text{O}_2 = 5,00$ Proz.; $\text{N}_2 = 82,51$ Proz.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,74.$$

Auf Grund der ausgeführten Versuche lassen sich folgende Schlüsse ableiten:

1) Die Alge *Chlorothecium saccharophilum* erscheint als eine typische Aërobe. Ihr Atmungskoeffizient ist kleiner als die Einheit ($\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} < 1$). Das Wachstum ist nur bei Anwesenheit von Sauerstoff möglich.

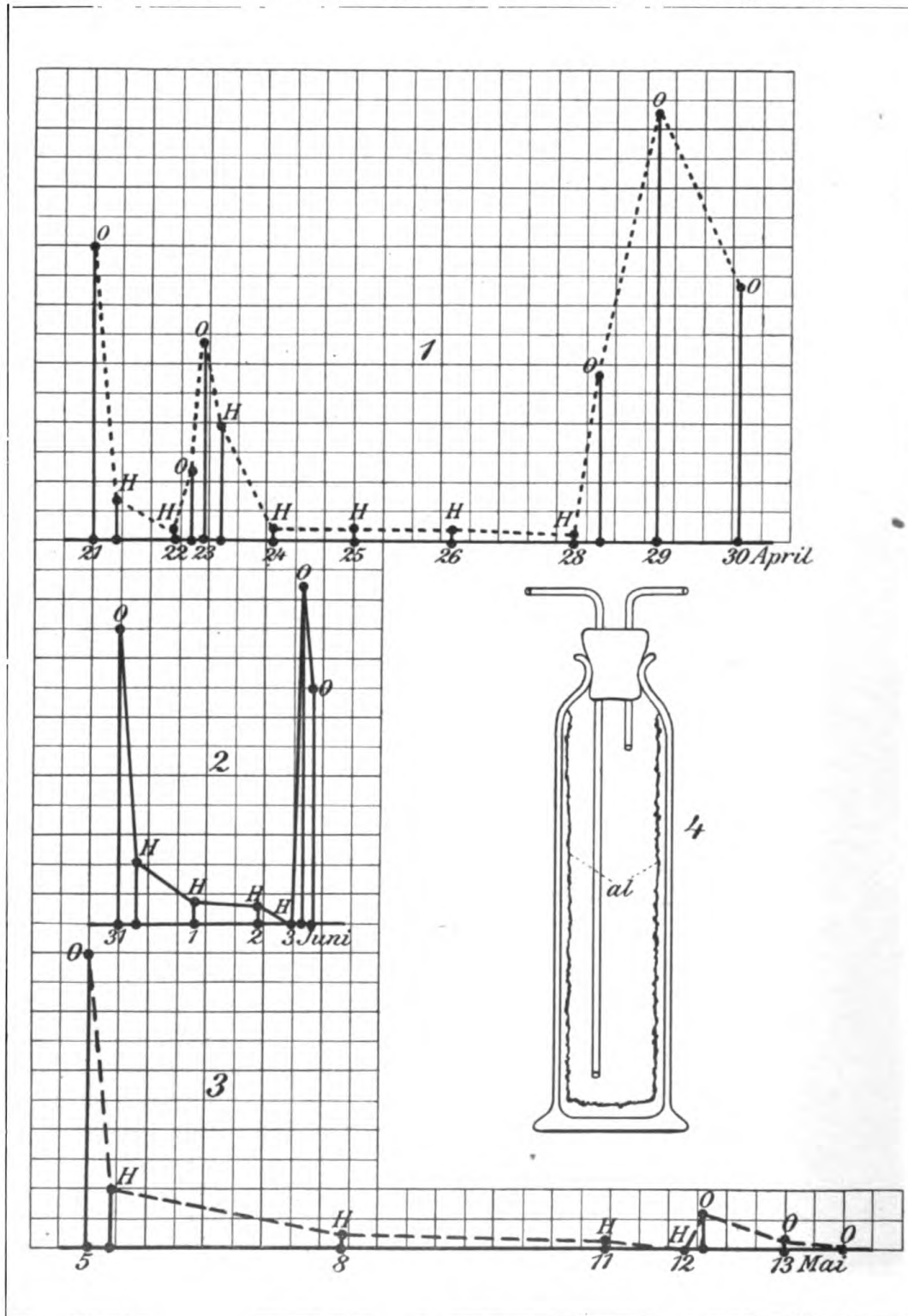
2) Ungeachtet des Unterbrechens der Vermehrung in einer sauerstofffreien Atmosphäre, fahren die Algen fort, Kohlensäure auszuschcheiden. Die Menge der in sauerstofffreier Atmosphäre ausgeatmeten Kohlensäure fällt sehr schnell. Glykose und Saccharose verursachen ein langsames Sinken als Raffinose und Mannit.

3) Nach längerem Aufenthalt in sauerstofffreier Atmosphäre hört die Kohlensäureerzeugung vollständig auf, nicht aber die Lebensfähigkeit der Alge; in die Luft versetzt, beginnt sie wieder, stark Kohlensäure auszuatmen.

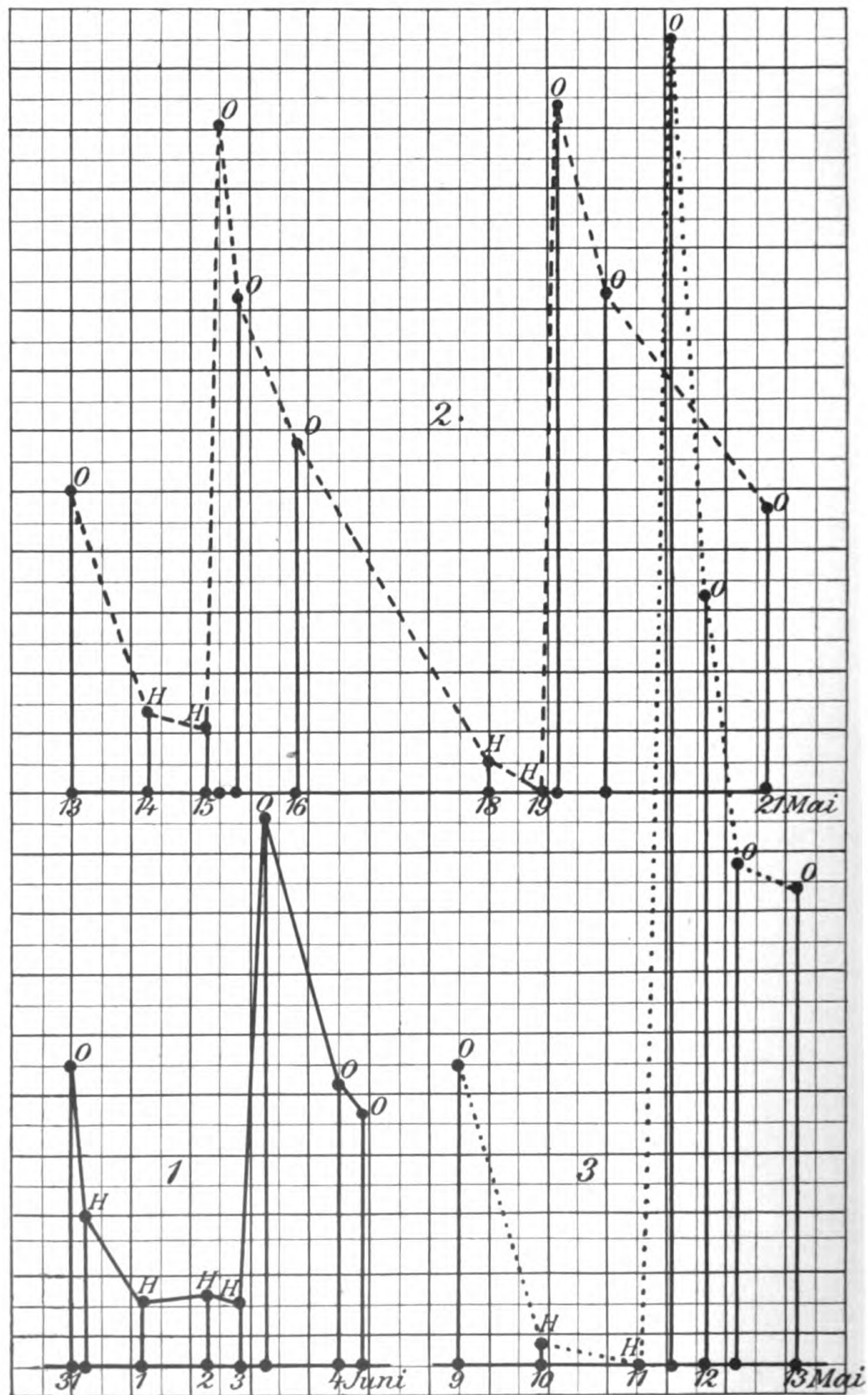
4) Wird Wasserstoff wieder von Luft ersetzt, so steigert sich nicht nur die Kohlensäureausscheidung, sondern sie übersteigt sogar bedeutend (einige Mal bis 4mal, ja mehr noch als 4mal) die normale Kohlensäureausscheidung in der Luft. Besonders starke Erhöhung der Atmungsintensität bei diesen Bedingungen nimmt man auf der Raffinose wahr.

5) Diese erhöhte Kohlensäureausscheidung dauert nicht lange, sie fängt allmählich an zu sinken, bis sie schließlich fast den normalen Grad erreicht.

6) Die in der Luft eintreffende, nach vorherigem Verweilen in einer sauerstofffreien Atmosphäre sehr erhöhte Kohlensäureausscheidung zeigt sich als sehr interessant zur Erklärung eines Zusammenhanges zwischen Atmungs- und Gärungsprozessen. Die in der Luft hervorgehenden Oxydationsprozesse hören mit Entfernung des Sauerstoffes auf und es treten die für die Gärungen charakteristischen Zersetzungsprozesse zusammengesetzter organischer Verbindungen ein. Erhalten die Algen wieder Sauerstoff, so beginnt ein erhöhtes Verbrennen der gebildeten Zersetzungsprodukte. Es könnte sein, daß diese Zersetzungsprodukte nicht nur als Brennstoffmaterial erscheinen, sondern gleichzeitig auch stark die Oxydationsprozesse stimulieren. Sind die Zersetzungsprodukte oxydiert, so



Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

fällt die Atmungsenergie sehr stark, bis sie die anfängliche Größe erreicht.

Die Kohlensäureausscheidung in einer sauerstofffreien Atmosphäre bei der Alge *Chlorothecium saccharophilum* kann nicht als typische Gärung, sondern als intramolekulare Atmung angesehen werden. Darum ist es erforderlich, klarzustellen, wie sich Hefe unter denselben Bedingungen verhält. Eine Arbeit mit Hefe geht schon in meinem Laboratorium vor sich und wird in dieser Zeitschrift veröffentlicht werden.

St. Petersburg. Pflanzenphysiol. Inst. der Universität.

Tafelerklärung.

O Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure bei Anwesenheit von Sauerstoff (normale Atmung).

H Menge der Kohlensäure im Wasserstoffstrom (intramolekulare Atmung).

Tafel I.

- 1) Atmung auf Glykose.
- 2) Atmung auf Saccharose.
- 3) Atmung auf Raffinose.

Tafel II.

- 1) Atmung auf Mannit.
- 2) Atmung auf Glykose (Pepton statt phosphorsaurem Ammoniak).
- 3) Atmung auf Saccharose.
- 4) Cylinder für Rollkulturen. *al* Algenschicht auf dem Gelatinenährsubstrat.

Referate.

Molliard, M., Rôle des bactéries dans la production des périthèces des Ascoboles. (Compt. rend. T. CXXXVI. p. 899.)

Es ist eine bekannte Tatsache, daß reine Kulturen von saprophyten Askomyceten stets bloß eine Form von Geschlechtsorganen zeigen. Man erhält nur sogenannte unvollkommene, und zwar die Konidienform der eingesäten Askomyceten.

Es ist nun dem Verf. gelungen, für einen Askomyceten der Gattung „*Ascobolus*“ die Bedingungen zu bestimmen, in denen sich die „*Périthèces*“ bilden.

Er erhielt nämlich zufälligerweise ein Mycelium, auf welchem sich nach etwa 14 Tagen Perithezien bildeten, die reichlich Askosporen ausschleuderten.

Die mikroskopische Untersuchung ließ die Gegenwart einer Bakterie erkennen, die zweifellos von Askosporen herrührte, welche von den Perithezien, eines auf Kuhkot kultivierten „*Ascobolus*“ entnommen waren.

Von dieser Beobachtung ausgehend, führte nun Verf. getrennte Kulturen der Bakterien und des „*Ascobolus*“ aus. Als Nährboden dienten steriler Kuhkot oder gelbe Rübenschnitzel.

Auf Kuhkot in Kölbchen gesät, entwickelt sich das Mycelium reichlich und überdeckt den Nährboden mit einer dicken, flockigen Schicht, welche aber steril bleibt.

Wird vorerst derselbe Kuhkot mit der Bakterie besät, so ist die Entwicklung des Myceliums zwar viel spärlicher, aber die einzelnen Fäden, welche außerhalb des Nährbodens sichtbar werden, bedecken sich nach etwa 20 Tagen mit zahlreichen üppigen Perithezien.

Es ist also festgestellt, daß die askosporentragende Form des *Ascobolus* zu ihrer Bildung die Mitwirkung einer Bakterie erheischt. Dieser Fall ist aber gewiß nicht eine Ausnahme. Er ist wahrscheinlich vielen Ascomyceten gemein, die sich auf Dünger und Humus entwickeln.

Es bleibt nun die Art der Mitwirkung der Bakterien zu erforschen, doch ist schon jetzt der Weg angedeutet, welcher zu einer allgemeinen Methode führen wird, durch die nach Willen die vollkommene Form vieler Pilze erhalten werden kann.

Jedenfalls zeigt diese Untersuchung, welche Wichtigkeit die biologische Natur des Nährbodens für die Entwicklung verschiedener Pflanzen besitzt.

A. Rosenstiehl (Enghien-les-Bains).

Henneberg, W., Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jg. XXVI. No. 22—31. Mit 23 Zeichnungen und 48 Photogrammen. Sonderabdruck bei Paul Parey-Berlin.)

Verf. hat bereits in Bd. VIII No. 6 dieses Centralblattes die Hauptergebnisse seiner Untersuchungen, die in einer vorläufigen Mitteilung (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XVIII. 1901 No. 30) zusammengefaßt waren, kurz referiert. Seit dieser Zeit sind noch verschiedene Untersuchungen über die in der vorläufigen Mitteilung genannten 9 Arten angestellt. Es wurden ferner mit dem von Schönfeld und Rommel reingezüchteten *Bacillus fasciformis* (Referat Centralbl. Bd. IX No. 21) vergleichende Versuche vorgenommen, um die Unterschiede von den übrigen Bier-Milchsäurebacillen festzustellen. Weiter waren Untersuchungen zur Beantwortung der Frage erwünscht, ob die von Beijerinck (Société Hollandaise des sciences à Harlem. Archives Néerlandaises des sciences exactes et naturelles 1901 — Sur les ferments lactiques de l'industrie — übersetzt von Henneberg in Zeitschr. f. Spiritusind. 1902 No. 50—52) *B. fermentum* und *B. Delbrücki* genannten Arten mit dem *B. Delbrücki* Leichmann identisch sind. Schließlich sind noch einige andere wichtige Milchsäurebacillen, wie die Ueberschrift der Arbeit anzeigt, genauer untersucht worden. Ueber die Art der entstandenen Milchsäure wird später noch berichtet. Das Wichtigste dieser ergänzenden oder neuen Untersuchungen soll im folgenden zusammengestellt werden.

Bacillus Delbrücki (Leichm.) bildet auf der Oberfläche und im Stich der Maischeagarkulturen neben den normalen

langgestreckten Zellen häufig Zellformen, die gänzlich abweichend gestaltet sind. Es sind kuglige und ringförmig oder spiralförmig aufgedrehte verdickte Zellen, die in ihrem Zusammenhang öfters die Gestalt einer eng gewundenen Spirale oder einer Weintraube annehmen. Bei dem morphologisch ähnlichen *Bacillus lactis acidii* sind diese abnormen Zellen nur sehr selten beobachtet.

In einigen Versuchsreihen wurde die Abschwächung des *Bacillus Delbrücki* in Maische bei höherer Temperatur festgestellt. In den Brennereien pflegt man das säuernde Hefegut des Abends auf 60—67° C anzuwärmen, damit die Temperatur in der Nacht nicht unter 50° C sinkt. Durch Laboratoriumsversuche ließ sich nun nachweisen, daß fast regelmäßig bei einer kurzen bis 3-stündigen Erwärmung auf 60—67° je nach der Dauer eine verschieden starke Abschwächung des Säuerungsvermögens eintritt. In manchen Versuchen wurden die Bacillen sogar abgetötet. Wenn in der Praxis trotzdem günstige Ergebnisse bei der Säuerung erhalten werden, so dürfte es daran liegen, daß ein Teil der Bacillen, z. B. an der Oberfläche der Maische, nicht dieser hohen Temperatur ausgesetzt wurde.

Die Methode der Prüfung des Säuerungsvermögens der Bacillen bei den verschiedenen Zuckerarten u. s. w. im hohlen Objektträger (vgl. Lindner, Gärmethode bei Hefen) gibt in manchen Fällen (*Bacillus Delbrücki*, *B. lactis acidii*) nach Zusatz von Kreide deutliche und richtige Resultate. Bei Milchsäurebacillen, die ein niedrigeres, mit vielen anderen Bacillenarten gemeinsames Wachstumsoptimum haben, wird man jedoch diese Methode wegen der Infektionsgefahr nicht anwenden dürfen.

Wie von vornherein vermutet werden konnte und durch verschiedene Versuche bestätigt wurde, richtet sich die Menge der entstandenen Säure außer nach dem Zuckergehalt auch nach dem Stickstoffgehalt der Flüssigkeit. Je mehr Hefeextrakt bei gleichem Zuckergehalt zugesetzt wurde, desto mehr Säure wurde erhalten.

Von verschiedenen Stickstoffverbindungen (Eiernalbumin, Kasein, Fibrin, Gluten, Diastase) wurde bei Abwesenheit eines Zuckers nur Diastase in größerer Menge gesäuert.

Zur längeren Erhaltung lebender Agarkulturen erwies sich die Anwendung von Stichkulturen, Zusatz von Kreide und ein Aufbewahren bei niedrigen Temperaturen als sehr zweckmäßig. Es gelang auf diese Weise, die Kulturen 4—7 Monate ohne Ueberimpfung am Leben zu erhalten.

Interessant ist, daß Kulturen von *Bacillus lactis acidii*, die 3 Monate auf milchzuckerfreiem Nährboden gezüchtet waren und dann in Milch geimpft wurden, letztere nach 5 Tagen säuerten. Es war also nur eine geringe Verzögerung in dem Milchsäuerungsvermögen nachzuweisen.

Langsames Eintrocknen auf sterilen Trebern vertrugen, wie Versuche zeigten, *Bacillus Delbrücki* und *Saccharo-*

Bacillus pastorianus var. *berolinensis* (Weißbiermilchsäurebacillus) 1—2 Monate und länger, ganz gut. Es werden auf diese Weise schon längere Zeit vom Berliner Institut Milchsäurebacillen ins Ausland an Brennereien mit gutem Erfolg gesandt.

Einige Male wurden aus Milch, die bei 48° in 24 Stunden spontan sauer geworden war und mikroskopisch nur den *Bacillus lactis acidii* aufwies, Kulturen von letzterem isoliert, die auffallend wenig und langsam Milchzucker und Milch säuerten. Es gibt also wahrscheinlich in der Milch Formen dieser Art mit verschiedenem Milchzuckersäuerungsvermögen.

An dieser Stelle mag auch erwähnt sein, daß die in vielen größeren Milchsäurefabriken angewandte Art des *Bacillus Delbrücki* (Leichmann) ist. Vom botanischen Laboratorium des Instituts werden Kulturen dieser Art an manche Fabriken regelmäßig gesandt. Der *Bacillus lactis acidii* dürfte sich nach den Versuchen des Verfassers wohl ebensogut im großen anwenden lassen. In solchen Fabriken, die mit Milchzuckerlösungen (Molke) arbeiten, kann nur diese oder eine andere Milchzucker säuernde Art und nicht der *B. Delbrücki* zur Anwendung kommen. Es ist Tatsache, daß in einigen kleineren Fabriken nach altem Rezepte noch Käse als Impfmateriel angewandt wird.

Die zur Beantwortung der Frage nach der event. Identität des *Bacillus Delbrücki* Leichmann und der *B. Delbrücki* oder des *B. fermentum* Beijerinck wichtigen Tatsachen mögen in folgender Uebersicht zusammengestellt sein. Da Parallelversuche mit beiden Arten bisher noch nicht angestellt werden konnten, müssen wir uns hier nach Beijerincks Beschreibung (l. c.) richten:

1) Beijerinck erhielt aus 36 stündiger saurer Maische bei 37° C auf Agar neben den undurchsichtigen Kolonien seines *Bacillus Delbrücki* kleine wasserhelle von *B. fermentum*. Aus 72 Stunden alter saurer Maische konnte er bei Luftzutritt auf Agar bei 37° C nur erstere Art erhalten.

Verf. bekam aus stark gesäuerter und nach Delbrücks Vorschrift genau bei 50° gesäuerter Fabrikmaische stets nur eine Art, den *Bacillus Delbrücki* (Leichmann). Wenn die saure Maische in Laboratoriumsversuchen 3 Tage bei 40—50° C gestanden hatte, so waren die Bacillen darin durch die Säure so geschwächt, daß sie überhaupt nicht mehr auf Würze- oder Maischeagar angingen.

2) Beijerincks Art bildet auf Agar dieselben ungewöhnlich geformten Zellen wie der vom Verf. untersuchte Milchsäurebacillus (s. oben).

3) Beijerinck fand, daß bei 37° C seine Bacillen in Würze bei reichlichem Luftzutritt an dem Boden und den Wänden des Kulturgefäßes sich ansammeln und daß nur bei Luftabwesenheit die geimpfte Würze eine 3 Tage andauernde Trübung und Kohlensäureentwicklung zeigt.

Die vom Verfasser untersuchte Art trübt unter allen Kulturbedingungen die Würze und bildet niemals, auch nicht in konzentrierter, Treber enthaltender Maische, merkbare Kohlensäurebläschen.

4) Beijerinck erhielt bei der Impfung mit absoluten Reinkulturen höhere Säurezahlen, als bei solcher mit spontan gesäuerten Maischen — Verf. konnte dies bei den von ihm angestellten Versuchen nicht beobachten.

5) Nach Beijerincks Angaben liegt das Säuerungs-optimum für *B. fermentum* nach 24 Stunden bei 41—42°. — Verf. fand als Optimum in den ersten 24 Stunden 46—47° und erst in den folgenden Tagen 41—42°. Bei 28—30° säuert der *B. Delbrücki* Leichmann weniger und bei 46—52° bedeutend mehr als Beijerincks Art.

6) Wiederholte Versuche, nach Beijerincks Angaben den vom Verf. untersuchten *Bacillus* in eine neue Form (*B. fermentum* in *B. Delbrücki*) überzuführen, hatten keinen Erfolg.

Nach diesen Angaben glaubt Verf. zu dem Schluß, daß Beijerincks *B. Delbrücki* nicht mit dem vom Institut für Gärungsgewerbe im großen gezüchteten *B. Delbrücki* identisch ist, berechtigt zu sein.

Wie weiter unten zu ersehen ist, hat Beijerinck vielleicht eine der Arten, die sich häufig in Maischen, welche bei Temperaturen unter 40° C gesäuert wurden, finden, bei seinen Untersuchungen vor sich gehabt.

Bier-Milchsäurebacillen.

Zu den im Centralbl. Bd. VIII. No 6. p. 188—190 genannten Beobachtungen über Bier-Milchsäurebacillen mag noch folgendes hinzugefügt werden:

Zu wiederholten Malen wurde bei der Untersuchung von Flaschenbier, das von demselben Fabrikabzug stammte, nur in einigen Flaschen eine Milchsäurebacillentrübung festgestellt. Es muß aus dieser Tatsache geschlossen werden, daß entweder die ursprüngliche Infektion so gering war, daß nur manche Flaschen lebenskräftige Bacillen erhielten, oder daß eine Infektion erst bei dem Abfüllen der betreffenden Flaschen erfolgte.

Aus dem hellen Lagerbier der Versuchsbrauerei wurde zuerst *B. Lindneri* vom Verf. und später *Bacillus fasciformis* von Schönfeld und Rommel reingezüchtet. Wie aus dem Referat (Centralbl. Bd. IX. No. 21) hervorgeht, hat *B. fasciformis* mit *B. Lindneri* die Eigentümlichkeit, bei Anwesenheit von Alkohol längere Zellfäden zu bilden, gemeinsam, dagegen soll nach der Beschreibung das Aneinanderlagern der Zellen (zu Bündeln) für *fasciformis* charakteristisch sein. Außerdem sei das Wachstum in gehopfter Würze und in dunklen Bieren ein Unterscheidungsmerkmal von dem *B. Lindneri*.

Vom Verf. ist nun in vielen Versuchen dieser *Bacillus* näher untersucht worden. Es muß nach den Ergebnissen der *Bacillus fasciformis* als eine Form des Weißbier-

milchsäurebacillus, *Saccharobacillus pastorianus* var. *berolinensis*, angesehen werden. Die Bündelbildung tritt nur unter bestimmten Bedingungen auf und ist auch früher bei manchen Kulturen des *S. pastorianus* beobachtet worden. Auf frischem Würzeagar war das Wachstum ein ziemlich üppiges, da die Kolonien am 6. Tag bereits 2 mm im Durchmesser betrugen. Wie manche Versuche zeigten, ist in einigen Kulturen die Widerstandsfähigkeit gegen größere Mengen Hopfen (gehopfte Würze) eine geringere. Sicherlich lassen sich diese Bier-Milchsäurebacillen auch an größere Mengen Hopfen anpassen. Bemerkenswert ist, daß der *Bacillus fasciformis* sich in Hefewasser mit verschiedenen Zuckerarten etc. wie der Weißbiermilchsäurebacillus verhält. Eine dem letzteren nahe verwandte, an größere Hopfenmenge angepaßte Form (*B. fasciformis*) kommt also zusammen mit dem *B. Lindneri*, Trübung verursachend, im gehopften Lagerbier vor.

An dieser Stelle mag auch erwähnt sein, daß man schon durch die Beobachtung des Wachstums in hängenden Tröpfchen zu dem Schluß kommt, daß mindestens verschiedene Rassen von Milchsäurebacillen im gehopften Bier, sowie im Weißbier und im umgeschlagenen belgischen Bier vorhanden sein müssen. Es wurden verschiedene Flaschen der beiden zuerst genannten Bierarten auf diese Weise geprüft. Aus dem Lagerbier erhielt man in manchen hängenden Tröpfchen unentwirrbare, gewundene Fädenmassen, deren Zellglieder deutlich oder gar nicht zu erkennen waren. In anderen Tröpfchen dagegen bildeten sich dichte Haufen loser Zellen, die in der Größe sehr verschieden waren. Neben vielen kleinen Zellen fanden sich wenige längere Zellfäden, die sich nach Färbung häufig als kurzgliedrige Zellketten (wie manche Essigbakterien) darstellten. Aus verschiedenen Flaschen wurden 8 Reinkulturen gewonnen und längere Zeit nebeneinander untersucht. Diese 8 Stämme unterschieden sich jedoch nur unwesentlich (in der Empfindlichkeit gegen Hopfengift und in der Zeit und Art des Zerfalls der Zellfäden in den hängenden Tröpfchen) voneinander.

Sehr ähnlich verhielt es sich mit den Untersuchungen des Weißbieres aus verschiedenen Brauereien. In Tröpfchenkulturen wuchsen neben den charakteristischen, vielfach gewundenen, langen Fädenmassen des Weißbiermilchsäurebacillus ebenfalls solche, die frühzeitig sich voneinander trennten und Haufen kürzerer Zellen oder Zellfäden bildeten. Es wurden verschiedene Reinkulturen aus dem Weißbier hergestellt und nebeneinander verglichen. Bis jetzt erhielt Verf. nur solche, die sich als völlig gleich erwiesen. Die Vermutung, daß *B. Lindneri* nach dem Befund der Tröpfchenkulturen ebenfalls im Weißbier zu finden sein dürfte, hat sich bisher noch nicht bestätigt.

Ebenso wurde die von van Laer gesandte Probe belgischen

Bieres auf verschiedene Milchsäurebacillen untersucht. Verfügte über 8 möglichst verschieden aussehende Kolonien und verglich diese Stämme in zahlreichen Parallelversuchen. Diesen Reinkulturen war gemeinsam, daß dünnere und breitere Zellen nebeneinander vorkamen, ein Merkmal, das anderen Milchsäurebacillenarten ebenfalls zukommt. Es konnten 2 verschiedene Gruppen dieser 8 Kulturen unterschieden werden. Die erste umfaßte 3 Reinkulturen und war durch die Bildung von langen, zusammenhängenden Zellfäden in den hängenden Würzetröpfchen und durch ein etwas geringeres Säuerungsvermögen in Maische, dagegen durch ein größeres in Hefeextrakt mit Dextrin, Rohrzucker und Fruktosezusatz charakterisiert. Die zweite Gruppe bildete keine festeren Zellverbände, säuerte Maische etwas mehr und die Zuckerlösungen weniger (*Saccharobacillus pastorianus* var. α). Es neigen also, wie aus diesen Untersuchungen hervorgeht, diese Bier-Milchsäurebacillen zur Bildung von Varietäten oder Rassen. Die Namen bezeichnen demnach Gruppen von sehr ähnlichen Formen.

Milchsäurebacillus aus schlecht vergärender Kartoffelmaische (*Bacillus Beijerincki* n. sp.).

Es darf wohl als feststehende Tatsache gelten, daß in Brenneimaschen verschiedene Bakterienarten eine schlechte Vergärung verursachen können. In der Praxis gilt als Regel, daß eine größere Säurezunahme in der Hauptmaische mit einer schlechten Vergärung, d. h. mit einer geringen Alkoholausbeute Hand in Hand geht. Es gelten also die Buttersäure- und die Essigsäurepilze als besondere Schädlinge. Letztere scheinen nach einigen Versuchen nicht nur, nachdem durch Hefe Alkohol gebildet ist, durch Erzeugung der Essigsäure, sondern auch durch Bildung von Glukonsäure u. s. w. schädlich auf die Hefe einwirken zu können. In verschiedenen eingesandten Proben von Maischen, in denen eine bedeutende Säurezunahme stattgefunden hatte, war nur wenig flüchtige Säure nachzuweisen. Da die biologische Analyse dieser Proben regelmäßig die Anwesenheit von verschiedenen Milchsäurebakterienarten ergab, so müssen auch diese als Schädlinge angesehen werden. Die Versuche hierüber sind noch nicht abgeschlossen. Der Kulturmilchsäurebacillus (*B. Delbrücki*) kann aus dem Grunde nicht bei der Säuerung der Hauptmaische beteiligt sein, da er bei der Temperatur (27—30° C) und der Dauer der Gärung nicht oder nur sehr wenig Vermehrung und Säuerung zeigt. Eine größere Anzahl anderer Arten hat jedoch bei dieser oder in der Nähe dieser Wärmegrade ihre günstigste Entwicklung.

Wenn man aus dem mit dem *B. Delbrücki* genau bei 48—50° C gesäuerten Hefegut vorschriftsmäßig geführter Brenne-

reien Kulturen in hängenden Tröpfchen anlegt, so entwickelt sich nur der Kulturmilchsäurebacillus. Dieser ist leicht daran zu erkennen, daß er nur bei höherer Temperatur (ca. 35–48°) wächst und keine langen, zusammenhängenden Fädenmassen oder Ketten, sondern nur Haufen einzelner oder zu mehreren verbundener (manchmal parallel gelagerter) Zellen, seltener längere, scheinbar ungegliederte Zellfäden bildet. Kulturen aus normal gärender Hauptmaische zeigen ebenfalls meist nur Zellen des *B. Delbrücki*, die zum größten Teil abgestorben sind. In den meisten Fabriken erhitzt man nämlich die Säuremaische vor dem Zusatz der Hefe zur Abtötung der Milchsäurebacillen auf 75° C. Bleibt die vergorene Maische länger, als es nötig ist, im Gärbottich stehen, so entwickelt sich trotz des hohen Alkoholgehaltes (auch bei Schwefelsäure- oder Flußsäurezusatz) eine größere Anzahl von anderen Milchsäurebakterienarten in üppigster Weise. Dasselbe ist der Fall bei dem Hefegut oder der Hauptmaische, wenn nicht kräftig genug durch den *B. Delbrücki* gesäuert oder auch sonst nicht nach der Vorschrift und mit genügender Sauberkeit gearbeitet wurde. In den hängenden Maischetröpfchen bei Zimmertemperatur oder 25–30° C bilden sich dann Mikrokolonien von verschiedenen Milchsäurebakterienarten (sehr häufig von *Pediococcus acidilactici*), die sich besonders gut nach Verdünnung mit steriler Würze oder Maische entfalten können. Da es vielleicht ähnlich wie bei den Hefearten gelingt, auch manche Milchsäurebacillenarten an der Wachstumsform in hängenden Tröpfchen zu erkennen, so wurde bei allen, vom Verf. näher untersuchten Reinkulturen die Art des Wachstums unter diesen Kulturbedingungen (ohne und mit Zusatz von Reinkulturhefe) festgestellt.

Aus einer Fabrik-Kartoffelmaische, zu der das Hefegut ohne Zusatz von Milchsäurebacillen (spontane Säuerung) gesäuert war, wurde der *Bacillus Beijerincki* n. sp. isoliert. Die Hauptmaische hatte 1,1 Proz. Milchsäure (normal ist höchstens 0,45 Proz.).

Die Kolonien (3 mm groß, am 3 Tage bei günstiger Temperatur) sind wasserhell, nur in der Mitte weißlich. Das Wachstum im Stich ist besser als auf der Oberfläche des Agars. Die Zellen sind einzeln (1,4:0,46 μ) oder zu 2 und mehreren (3,2–9,8:0,53 μ) in geraden oder gebogenen Linien vereinigt. In Mischkulturen (Maischeagar) mit Hefe ist das Wachstum sehr üppig. Nach 24 Stunden tritt in Maische, gehopfter und ungehopfter Würze etc. eine flockige Trübung ein, da die Bacillen vielfach zu kleineren oder größeren Haufen zusammenkleben. Es findet keine Gasbildung statt. In 3–7 Tagen tritt wieder Klärung ein. Charakteristisch sind in hängenden Tröpfchen die langen, vielfach gewundenen Zellketten, deren Einzelglieder 1–2,8:0,7 μ maßen. Im Alter, in Mischkulturen mit Hefe oder bei dem Färben zerfallen die Ketten in einzelne Zellen.

Das Maximum der Säuerung (Maische) liegt bei ca. 45°

und das Optimum zuerst bei 34—38°, später bei 27—32°. Die größte Säuremenge in Maische war am 16. Tag 1,4 Proz. Milchsäure. Die bisherigen Versuche zeigten, daß in Mischkulturen mit Hefe die Säuerung der Maische nur in manchen Fällen etwas geschwächt wurde, und daß die Hefe nur in geringem Grade durch den Bacillus gelähmt wurde. Es ist also bisher noch nicht die Schädlichkeit dieser Bacillenart im Laboratoriumsversuch nachzuweisen gewesen.

Gesäuert wird: Lävulose, Dextrose, Malzzucker, Rohrzucker, Galaktose — wenig Raffinose, Dextrin, α -Methylglykosid; — dagegen nicht: Arabinose, Rhamnose, Milchzucker, Trehalose, Inulin und Mannit.

(Die Reihenfolge der gesäuerten Zuckerarten etc. ist hier und im folgenden stets nach dem Grad der Säuerung gewählt. Lävulose wird im vorstehenden Falle also am meisten und Galaktose am wenigsten gesäuert.)

Milchsäurebacillen aus der Preßhefe.

Verf. untersuchte zahlreiche, dem botanischen Laboratorium eingesandte Proben aus verschiedenen Hefefabriken. Zur Untersuchung kamen Proben von der gesäuerten Maische bis zur fertigen, abgepreßten Hefe. Der Kulturmilchsäurebacillus (*B. Delbrücki*) ist zum Teil in der reifen Hefe noch lebend, da er nur in manchen Fabriken nach der Säuerung der Maische durch höhere Temperaturen abgetötet wird (Luftheferverfahren). In gut geleiteten Hefefabriken gelangen andere unerwünschte Arten in der gärenden Maische oder in der gelüfteten Würze kaum zu einer bemerkenswerten Entwicklung. Vielfach jedoch erhielt Verf. Maische und Würzproben, die verschiedene Milchsäurebacillenarten in großer Menge bei der Analyse zeigten. In diesem Falle war naturgemäß auch die fertige Hefe stark infiziert. Wieweit nun diese Bacillen bei dem Verderben der abgepreßten Hefe beteiligt sind, wird in späteren Arbeiten gezeigt werden. Die bisherigen Versuche ließen erkennen, daß manche dieser Bacillenarten (darunter auch der *Pediococcus acidilactici*) mit großer Regelmäßigkeit in der abgepreßten Hefe vorkommen, bei dem Lagern und Weichwerden derselben sich stark entwickeln und eine Säurebildung hervorrufen. Aus dieser Tatsache geht hervor, daß sie genügend Nährstoffe in der abgepreßten Hefe vorfinden. Es wäre denkbar, daß die Bacillen von den Stoffwechselprodukten der Kulturhefe, ähnlich wie die vom Verf. näher untersuchten Kahlhefen, lebten. Andererseits spricht der Umstand, daß bei schnell weich werdenden Preßhefen in besonders großer Menge verschiedene Milchsäurebacillenarten gefunden wurden, für ihre Schädlichkeit. Aus einer eingesandten Preßhefe wurden folgende Arten isoliert und näher untersucht. Einige, wie der *B. Listeri* u. s. w., sind sehr häufig in den Proben gefunden.

Bacillus Listeri n. sp.

Die kleinen weißen Kolonien wachsen im Agarstich besser

als auf der Oberfläche. Es sind meist einzelne Zellen ($1,4-2,8:0,7\mu$) oder zu 2 und mehreren ($2,4-12,6\mu$) vereinigt. Zellfäden von 12μ Länge sind seltener. Wie bei der vorigen Art kleben die Zellen häufig in Haufen zusammen. Nach 24 Stunden trübt sich die geimpfte Maische ohne Gärungserscheinungen sehr stark und wird oft erst nach 8 Tagen wieder klar. In gehopfter Würze und Milch wächst diese Art gut, dagegen nicht in Bier. Die Kultur in hängenden Tröpfchen zeigt wie bei der vorigen Art vielgliedrige Ketten ($10-140\mu$), deren Teilstücke $0,7-2,8\mu$ lang und $0,7\mu$ breit sind. Durch Zerfall entstehen später dichte Haufen loser Zellen. Eingepfachte Hefezellen werden oft gänzlich von den Bacillen eingeschlossen. Das Säuerungsmaximum liegt bei 42° , später bei 45° , und das Optimum bei 34° . Die größte Säuremenge war 1,1 Proz. Milchsäure.

Gesäuert wird: Raffinose, Trehalose, Dextrose, Galaktose, Malzzucker, Lävulose, Milchzucker, Rohrzucker, Mannit, — wenig Dextrin und α -Methylglykosid — dagegen nicht: Arabinose, Inulin, Rhamnose.

Milch wird gesäuert.

Mit dem *Bacillus Beijerincki* hat diese Art vieles gemeinsam, doch ist das Säuerungsvermögen unterscheidend. Spätere Arbeiten müssen zeigen, ob letzteres konstant oder leicht durch Züchtung zu verändern ist. Morphologisch sind viele Arten oft sehr ähnlich, wie z. B. *B. Delbrücki* und *B. lactis acidii*.

Bacillus Wortmanni n. sp.

Das Wachstum der kleinen weißen Kolonien im Stich, sowie auf der Oberfläche des Agars ist ziemlich gleich gut. Die Zellen sind einzeln ($1,4:0,5\mu$) oder zu 2 ($2,1-3,5\mu$), seltener zu 3 und 4 in kurzen gebogenen Ketten vereinigt. Es finden sich auch kürzere Zellfäden von ca. $8,4\mu$ Länge und $0,6\mu$ Breite. In Maische u. s. w. verursacht diese Art innerhalb 24 Stunden eine starke Trübung, die je nach der Temperatur 3—9 Tage anhält. Eine Gärung findet nicht statt. Das Wachstum in hängenden Maischetröpfchen zeigt Haufen loser Zellen ($2,4-3,5\mu$), kurzer Ketten ($7-14\mu$) und Fäden ($18,2:0,8\mu$). Häufig lagern sich die kurzen Zellen parallel nebeneinander, so daß, wenn die Enden dem Beschauer zugewandt sind, Sarcinokolonien vorgetäuscht werden können.

Das Maximum der Maischesäuerung liegt zwischen $40-45^{\circ}$, das Optimum in den ersten 48 Stunden bei $33-40^{\circ}$, später bei $25-29^{\circ}$. Die größte Säuremenge war 1,3 Proz. Milchsäure.

Gesäuert wird: Dextrose, Trehalose, Arabinose, Malzzucker, Rohrzucker, Mannit, Lävulose, Dextrin, Raffinose, Galaktose, Milchzucker und α -Methylglykosid — dagegen nicht: Inulin.

In Milch findet eine Säuerung statt.

Bacillus Hayducki n. sp.

Im Agarstich nehmen die runden weißen Kolonien größere Abmessungen an als auf der Oberfläche. Die Zellen sind einzeln und oft etwas gekrümmt ($1,4-4,2:0,5\ \mu$); in Maische ($0,7-2,8:0,5\ \mu$) kleben sie öfters zu Haufen zusammen. In Maische tritt unter Gasbildung nach 24 Stunden eine Trübung ein, die bis zum 3. oder 5. Tag wieder verschwindet. Hängende Tröpfchen zeigen Haufen loser Zellen (Hefemischkultur) oder mäßig lange, leicht zerfallende Ketten, deren Einzelglieder $1,7-2,8:0,7\ \mu$ maßen.

Das Säuerungsmaximum liegt über 46° , das Optimum zuerst bei $45-46^{\circ}$, später bei $33-35^{\circ}$. Die Gärung hält ca. 6 Tage an. Die größte Säuremenge war 1,5 Proz. Milchsäure. In Maische mit Kreide bildete sich 2,9 Vol.-Proz. Alkohol.

Gesäuert wird: Lävulose, Malzzucker, Raffinose, Rohrzucker — wenig Arabinose, Dextrose, Galaktose, Dextrin und Mannit — dagegen nicht: Trehalose, Milchzucker, Inulin und α -Methylglykosid.

Bacillus Buchneri n. sp.

Die weißen oder gelblichweißen Kolonien sind in einem Stück mit der Platinnadel abzuheben, erscheinen also fester zusammengefügt. Zwischen dem Oberflächen- und dem Stichkulturwachstum herrscht kein Unterschied. Innerhalb 24 Stunden tritt Gasbildung und starke Trübung in Maische ein, die 7—12 Tage andauert. Die Zellen sind einzeln ($0,7-1,4:0,35\ \mu$) oder zu 2—4 verbunden ($10\ \mu$), oder längere Fäden darstellend ($25\ \mu$ und länger). Längere Zellfäden, die nach der Färbung als Ketten erscheinen, finden sich auch in hängenden Tröpfchen.

Bei der Maischesäuerung liegt das Maximum über 47° und das Optimum zuerst bei $39-40^{\circ}$, später bei $23-30^{\circ}$. Die größte Säuremenge war 1,3 Proz. Milchsäure. In Maische mit Kreide wurde 2,7 Vol.-Proz. Alkohol festgestellt.

Gesäuert wird: Arabinose, Lävulose, Rohrzucker, Malzzucker, Raffinose, Dextrose und Dextrin — wenig Milchzucker, Galaktose und Mannit, — dagegen nicht: Trehalose, α -Methylglykosid, Inulin.

Bacillus Leichmanni I n. sp.

Diese Art bildet wasserhelle Kolonien mit weißlicher Mitte. Das Wachstum im Stiche ist besser als auf der Oberfläche. Die in 24 Stunden in Maische eintretende Trübung ist durch Flockenbildung charakterisiert. Sie dauert 4—7 Tage ohne Gärungserscheinungen. Agarkulturen enthalten längere Zellketten mit mehr oder weniger dichten Knäuelbildungen. Die Maße der Einzelglieder betragen $2,1-4,2:0,6\ \mu$; die Breite seltener $1,1\ \mu$ (Hypertrophieen). Es fanden sich in Maische und in hängenden Tröpfchen fast stets kürzere, 4—6gliedrige Zellketten. Interessant ist, daß in 2-proz. Maltose-

hefewasser etc. die Zellglieder der Ketten nur $1,4:0,7 \mu$ maßen. Das Maximum der Maischesäuerung liegt zwischen 40 und 46° und das Optimum zuerst bei $35-36,5$, später bei $20-27^\circ$. Die größte Säuremenge war $1,3$ Proz. Milchsäure.

Gesäuert wird: Dextrose, Trehalose, Malzzucker, Lävulose, α -Methylglykosid und Rohrzucker, — wenig: Mannit und Galaktose — dagegen nicht: Arabinose, Rhamnose, Milchzucker, Raffinose, Dextrin und Inulin.

Bacillus Leichmanni II n. sp.

Wie bei der vorigen Art ist das Aussehen der Kolonien und das Wachstum der Agarkulturen. Die Maische trübt sich flockig nach 24 Stunden ohne Gärungserscheinungen. Nach 4–8 Tagen ist die Trübung verschwunden. In den Agarkulturen finden sich längere Zellketten, die vielfach Knäuelbildungen zeigen. Wenn letztere sich aus dem Verbande durch Zerfall abtrennen, entstehen die eng aneinander gelagerten Zellen, die sich neben den unregelmäßig gebogenen Zellketten in Maische u. s. w. und in hängenden Tröpfchen vorfinden. Das Säuerungsmaximum liegt zwischen 40 und 46° und das Optimum bei $35-36,5$, später bei $26-27^\circ$. Die größte Milchsäuremenge war $1,85$ Proz.

Gesäuert wird: Lävulose, Inulin, Dextrose, Galaktose, Trehalose, Malzzucker, Mannit, Milchzucker, Rohrzucker, Raffinose und α -Methylglykosid — wenig: Dextrin und Arabinose.

Milch wird gesäuert.

Bacillus Leichmanni III n. sp.

Die Kolonien sind flach, einfarbig weißlich und im Agarstiche größer als auf der Oberfläche. Sehr bemerkenswert ist, daß in Maische u. s. w. keine Trübung eintritt, da die Bacillen große, eiweißähnliche Flocken, die auf den Boden des Gefäßes sinken, bilden. Dies kommt daher, daß die Zellen in Zusammenhang bleiben und außerordentlich lange Zellfäden bilden. Eine Gliederung in den Fäden ist oft erst nach der Färbung zu erkennen. Die Knäuelbildung tritt besonders an den Zellketten der Agarkulturen, der Kulturen in Maltosehefewasser u. s. w. und in hängenden Tröpfchen auf. Es hatten die Einzelglieder meist $1-2,4 \mu$ Länge und $0,4 \mu$ Breite.

Das Säuerungsmaximum liegt zwischen 40 und 46° und das Optimum bei $35-36,5^\circ$. Die größte Säuremenge war $1,64$ Proz. Milchsäure.

Gesäuert wird: Trehalose, Lävulose, Dextrose und Galaktose — wenig: Malzzucker, Mannit, Dextrin und Rohrzucker — dagegen nicht: Arabinose, Rhamnose, Milchzucker, Raffinose, Inulin und α -Methylglykosid.

Bacillus Maerckeri n. sp. aus der bei 25—40 °C
gesäuerten Getreidemaische.

Eine spontane Säuerung der nicht pasteurisierten Getreidemaische bei 50 °C enthält sehr häufig den *B. Delbrücki*, manchmal auch den *Pediococcus acidilactici*, und bei 25—40 °C öfters fast ausschließlich eine kurzzellige, häufig kleine Ketten bildende Bacillenart (*B. Maerckeri*).

Die Kolonien sind weißlich. Es bilden sich im Gegensatz zu den bisher genannten Bacillenarten in Strichkulturen auf Agar nicht isolierte Kolonien, sondern zusammenhängende Pilzmassen. Diese Art wächst im Stiche weniger gut. Nach 24 Stunden trübt sich die Maische etc., öfters unter geringer Flockenbildung, und klärt sich bis zum 4—7 Tag. Es tritt keine Gasbildung ein. In Agarkulturen sind es einzelne oder zu 2 zusammenhängende kurze Zellen (1,4—3,8:1 μ), während in Maische außerdem mehr oder weniger vielgliedrige gerade oder gekrümmte Ketten und kürzere Zellfäden (7:0,8 μ) zu beobachten sind. Durch Zusammenkleben der Zellen bilden sich Zellhaufen oder Flocken. In hängenden Tröpfchen entstehen Haufen loser Zellen. Das Säuerungsmaximum liegt über 47 ° und das Optimum zuerst bei 35—36,5, dann bei 20—23 °. Die größte Milchsäuremenge war bisher 1,1 Proz.

Gesäuert wird: Lävulose, Trehalose, Malzzucker, Raffinose, Galaktose, Dextrose, Rohrzucker, Mannit, Milchzucker — wenig: Arabinose und Dextrin — dagegen nicht: Inulin und α -Methylglykosid.

Milch wird gesäuert.

Bacillus Wehmeri n. sp. aus der Melasse.

Die rundlichen weißen Kolonien wachsen im Stich und auf der Oberfläche des Agars gleich gut. In Maische dauert die nach 24 Stunden eintretende flockige Trübung 3—7, seltener 11 Tage. Es findet in den ersten 3 Tagen eine Gasbildung statt. Die Zellen sind vielfach sehr klein (1—1,4:0,5 μ), einzeln oder in Fäden (11 μ) und Ketten, deren Einzelglieder verschieden lang sind, vereinigt. In hängenden Tröpfchen wachsen gekrümmte, mäßig lange Fäden, die oft frühzeitig zerfallen und gefärbt als sehr kurzgliedrige Ketten (0,7:0,35 μ) erscheinen. In Maltosehefewasser waren es einzelne (1,6—2,4 μ) oder zu 2 und 3 verbundene längere Zellen (6,4:0,4 μ).

Das Säuerungsmaximum liegt zwischen 40—46 ° und das Optimum bei 39—40 °. Die größte Säuremenge war 1,3 Proz. Milchsäure. In Maische mit Kreide wurde 2,7 Vol.-Proz. Alkohol festgestellt.

Gesäuert wird: Arabinose (auffallend stark), Dextrose, Lävulose, Mannit, Raffinose, Galaktose, Milchzucker und Malzzucker — wenig: Rohrzucker, Dextrin und α -Methylglykosid — dagegen nicht: Trehalose und Inulin.

Milch wird gesäuert.

Bacillus cucumeris fermentati n. sp. aus normaler
Sauregurkengärung.

Die feucht-schleimigen Kolonien sind flach, rundlich, von weißer Farbe und nach 24 Stunden ca. 1 mm groß. Das Wachstum im Stich ist noch besser als auf der Oberfläche. Es bildet sich bei Strichkulturen auf letzterer eine einheitliche, weiße Pilzmasse, also nicht isolierte Kolonien wie bei vielen Milchsäurebacillenarten.

In Maische tritt eine mäßige, nur 2—3 Tage andauernde Trübung ohne Gasbildung ein. Die Pilzmassen bilden nach dem Verschwinden der Trübung auf den Trebern weiße Niederschläge.

Auf der Agaroberfläche sind es meist einzelne ($1,7-2,1:0,7-1\ \mu$) oder zu 2 und mehreren in geraden oder gebogenen Ketten (oft $7\ \mu$) vereinigte Bacillen. Daneben sind öfters unregelmäßig gestaltete und ringförmig gelagerte Zellen oder scheinbar ungegliederte Zellfäden zu beobachten. In Maische herrschen mäßig lange Zellketten (bis 15-gliedrig, öfters $8\ \mu$), deren Einzelglieder $1,2-4,8\ \mu$ messen, vor. Die einzelnen Zellen messen $2,1:1,2\ \mu$ und die Zellfäden bis $32\ \mu$. Nur mäßig ist das Wachstum in hängenden Tröpfchen, in denen die Zellen öfters hypertrophisch verdickt und ringförmig gelagert sind. Das Maximum der Maischesäuerung liegt zwischen 42 und 48° und das Optimum bei 34° . Die größte Säuremenge war 1 Proz. Milchsäure.

Gesäuert wird: Lävulose, Arabinose, Dextrose, Galaktose, Rohrzucker, Trehalose, Raffinose, Malz-zucker, Milchzucker, Mannit — wenig: Dextrin — dagegen nicht: Inulin, α -Methylglykosid.

Diese Art wurde in einer normal verlaufenden Sauregurkengärung (0,74 Proz. Milchsäure) neben *Pediococcus acidilactici*, Heubacillen und Kahlhefen gefunden und dürfte der Milchsäurepilz der Gurkengärung sein. In einem fadenziehenden Gurkensaft fand sich eine bis auf die fehlende Arabinosesäuerung gleiche oder sehr ähnliche Art neben dem folgenden *Bacillus*.

Bacillus Aderholdi n. sp. aus fadenziehendem
Sauregurkensaft.

Es sind kleine, weißliche Kolonien, die im Stich viel besser als auf der Agaroberfläche wachsen. Die Zellen erinnern in der Gestalt und Größe an *B. Delbrücki*. In Agarkulturen sind es $2,8-14$ (meist $4,2$): $0,46-0,7\ \mu$ messende Zellen, seltener bis $56\ \mu$ lange Fäden. Kulturen in Maische zeigten $2,1-8,4$ lange und $0,5-0,7\ \mu$ breite, und zwar sehr viel kurze Zellen. Als Unterschied von *B. Delbrücki* mag hervorgehoben sein, daß die Zellen auf Agar bei 48°C meist die normale Langstäbchenform besaßen. Die geimpften Maischen trüben sich und zeigen Gärungserscheinungen und Dickflüssigkeit nach 24 Stunden. Die Trübung dauert länger als 9 Tage, die Dick-

flüssigkeit verschwindet am 2. Tag und die Gärung dauert 3—7 Tage und zwar desto länger, je langsamer die Säurebildung vor sich geht.

Das Säuerungsmaximum liegt zwischen 48—50°C und das Optimum zuerst bei 37—38°, später bei 31—35°. Die größte Säuremenge war bisher 1,4 Proz. Milchsäure. Nach 3½ Monaten waren die Agarkulturen (ohne Weiterimpfung) noch lebend.

Gesäuert wird: Lävulose, Milchzucker, Malz-zucker, Raffinose, Dextrose, Galaktose, Rohrzucker und Dextrin — dagegen nicht: Arabinose, Trehalose, Inulin, Mannit und α -Methylglykosid.

Von Aderhold (Untersuchungen über das Einsäuern von Früchten und Gemüse. Landw. Jahrb. Bd. XXVIII. 1899) ist als das wichtigste Milchsäurebakterium der sauren Gurken das Bakterium Güntheri (Lehm. und Neum.) und seine Varietäten genannt worden. Nach Leichmann ist B. Güntheri sein Bakterium lactis acidi. Verf. hält nach den Bildern und Beschreibungen von Aderhold es für ausgeschlossen, daß *Bacterium lactis acidi* vorgelegen hat. Letzteres bildet nicht lange Fäden (7—12 μ) neben langgliedrigen (0,8—2,5 μ) Ketten und ebenfalls nicht bis 1,3 Proz. Milchsäure. Wahrscheinlich ist der vom Verf. als *Bacillus cucumeris fermentati* bezeichnete Spaltpilz mit Aderholds vermeintlichem *Bacterium Güntheri* identisch.

Aderhold beobachtete in manchen Gurkenlaken, z. B. aus Frankenhausen, öfters auch lange Bacillenformen, die gewisse Flüssigkeiten fadenziehend machten, und sah diese als Varietäten von B. Güntheri an. Verf. schlägt den Namen B. Aderholdi vor und hält diese Art wegen der Verursachung der Dickflüssigkeit für unerwünscht („krankheitserregend“) bei der Gurkensäuerung.

Bacillus brassicae fermentatae n. sp. aus dem
Sauerkohl.

Die Kolonien sind flach, rundlich, feucht und in der etwas erhöhten Mitte weißlich, sonst wasserhell. Nach 6 Tagen haben sie eine Größe von 2,5—3,5 mm. Bei Strichkulturen auf Agar entsteht eine einheitliche, weißliche Pilzmasse. Das Wachstum im Stich ist noch besser. Nach 24 Stunden trübt sich die geimpfte Maische etc. mäßig stark und zeigt Gasentwicklung. Es bildet sich bei der nach 4—5 Tagen eintretenden Klärung ein weißlicher Niederschlag auf den Trebern. Die Gärung dauert öfters bis zum 12.—14. Tage. In Maische mit Kreide bildete sich 2,4 Vol.-Proz. Alkohol. Auch in den Agarstichkulturen konnte Gasbildung beobachtet werden.

In Agarkulturen sind es einzelne (1,6—2,4; 0,6—1,4 μ) oder zu 2—4 verbundene Zellen (2,4—8 μ), die manchmal ringförmig gelagert sind. Die Zellen in Maische sind einzeln, oder

meist in mehr oder weniger gebogenen, 2—11gliedrigen ($3,2$ — $24\ \mu$) Zellketten, deren Einzelglieder ($0,8$ — $2,4\ \mu$) nur lose zusammenhängen, oder in Zellfäden ($6,4$ — $14,4\ \mu$) vereinigt. Das Wachstum ist in Form loser Zellen oder parallel gelagerter Zellketten in hängenden Tröpfchen nur mäßig. Das Säuerungsmaximum liegt zwischen 42 und 48° und das Optimum zuerst bei 34 — 38 , später bei 28°C . Dieser Bacillus säuert stark und sehr schnell. Die größte Milchsäuremenge war $1,46$ Proz.

Gesäuert wird: Arabinose, Malzzucker, Dextrose, Lävulose, α -Methylglykosid, Galaktose und Rohrzucker — wenig: Mannit — dagegen nicht: Rhamnose, Milchzucker, Raffinose, Trehalose, Dextrin und Inulin.

Dieser Milchsäurebacillus fand sich neben verschiedenen Hefarten und Heubacillenarten in großer Menge in normalem Sauerkohl. Mit dem *Bacterium brassicae acidae* Lehm. und Conr. ist obige Art nicht identisch.

Milchsäurebacillen aus dem Sauerteig,
Bacillus lactis acidii Leichm. und *Bacillus panis*
fermentati n. sp.

Neben Hefen und Heubacillenarten fanden sich 2 Milchsäurebacillenarten in großer Menge in einem frischen Sauerteig. Die eine Art wurde als *Bacillus lactis acidii* Leichm. bestimmt. Bemerkenswert ist, daß einige Kolonien auf Agar die für Agarkulturen des *B. Delbrücki* charakteristischen verdickten und gewundenen Zellen zeigten. Ferner ist hervorzuheben, daß die aus dem Sauerteig isolierte Art die Zuckerarten u. s. w. — Maltose ausgenommen — viel weniger als die aus der Milch bei 46° stammende Kultur säuerte.

Die zweite Art, *Bac. panis fermentati*, bildet unregelmäßig geformte, flache, weißgraue Kolonien, die in 7 Tagen 1 mm groß waren. In der Stichkultur wächst diese Art viel besser. Die geimpfte Maische trübt sich nach 24 Stunden unter Gärungserscheinungen sehr stark. Die Trübung dauert öfters 11 Tage, während die Gasbildung am 4. Tage schon aufhört. Auf Agar sind es dünne, längliche, meist zu 2 oder 4 zusammenhängende Zellen neben längeren Zellfäden. In Maische ist das Aussehen ähnlich; die Abmessungen der zahlreichen einzelnen Zellen sind $1,6$ — $2,4:0,5$ — $0,8\ \mu$, die der zu 2 zusammenhängenden $2,8$ — $4,8\ \mu$ und der Zellfäden 4 — $10\ \mu$. Hängende Tröpfchen weisen dichte Haufen loser Zellen auf, die sich öfters durch paralleles Aneinanderlegen dem Beschauer wie Sarcinapakete darstellen. Seltener finden sich hier auch längere Zellfäden ($21\ \mu$).

Das Säuerungsmaximum liegt zwischen 42 und 48°C und das Optimum bei 37 — 42° , später bei 34 — 38° . Die größte Milchsäuremenge war $0,9$ Proz. In Maische mit Kreidezusatz bildete sich $2,6$ Vol.-Proz. Alkohol.

Gesäuert wird: Maltose, Arabinose, Lävulose —

Säuerungstabelle.

Ein — bedeutet keine, (+) sehr wenig, + deutliche, ++ starke und +++ sehr starke Säuerung.

Art	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Lävulose	Dextrose	Galaktose	Rohrzucker	Maltose	Milchzucker	Raffinose	Trehalose	Dextrin	Inulin	Stärke	Erythrit	Mannit	Inulcit	Quercit	α -Methylglykosid
Bacillus Delbrücki	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus lactis acidii	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Saccharobacillus pastorianus	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
S. p. var. berolinensis	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
S. p. v. b. Form. fasciformis	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Lindneri ¹⁾	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacterium lactis acidii	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Pediococcus acidii lactici	+	+	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Aderholdii	—	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus cucumeris fermentati	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus brassicae fermentatae	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus panis fermentati	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Beijerinckii	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Maerekeri	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Listeri	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Wehneri	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Wortmanni	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Hayducki	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Buchneri	+++	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Leichmanni I	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Leichmanni II	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—
Bacillus Leichmanni III	+	—	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	+	+++	+	—	—	—	—	—	—

1) Da diese Art in Hefenwasser auffallenderweise sehr schlecht wächst, sind die Angaben als unvollständig anzusehen.

wenig: Dextrose und Rohrzucker — dagegen nicht: Rhamnose, Galaktose, Milchzucker, Raffinose, Trehalose, Dextrin, Inulin, Mannit und α -Methylglykosid.

Untersuchung eines menschlichen Mageninhalts
auf Milchsäurebacillen.

Die Milchsäurebacillen kommen im Magen zur Entwicklung, wenn aus irgend einem Grunde (Krebs etc.) die motorische Funktion desselben gestört ist. Verf. isolierte aus einem Mageninhalt eines an Magenkrebs leidenden Menschen 5 verschiedene Milchsäurebacillen. Die Magenflüssigkeit enthielt 1 Proz. Milchsäure.

Es wurden folgende Arten näher untersucht:

1) *Pediococcus acidilactici*.
2) *Milchsäurebacillus A.* Länge 1,7–2,8, Breite 0,7–1 μ . Gärt in Maische und säuert bis 1,2 Proz. Bei 50° C noch stark säuernd. Milch gerinnt nicht. Das Wachstum im Stich und auf der Oberfläche ist gut.

3) *Bacillus Delbrücki* Leichmann. Abmessungen: 2–9,6: 0,5–0,8 μ . Bei 50° noch 0,9 Proz. Säure. Milch gerinnt nicht. Keine Gärung. Nur im Stich gutes Wachstum.

4) *Bacillus B.* Ähnlich der vorigen Art, doch in der Breite sehr verschieden. Milch gerinnt. Keine Gärung. Bei 50° kein Wachstum. Säuerung in Maische bis 0,8 Proz. Gutes Oberflächenwachstum.

5) *Bacillus C.* Längere Zellfäden und Ketten. Abmessungen: 2,8–7:0,7–1 μ . Keine Gärung. Bei 50° kein Wachstum. Milch gerinnt nicht. Maischesäuerung bis 1,1 Proz.

Autoreferat.

Salmon, E. S., *Cercosporites* sp., a new fossil fungus. (Journ. of Botany. Vol. XLI. 1903. p. 127–130.)

Verf. spricht die Ansicht aus, daß die von Pampaloni aus dem mittleren Miocän Siciliens als *Erysiphites Melilli* beschriebenen Körper nichts mit Erysipheen zu tun haben. Die vom gleichen Autor ebenda entdeckten als *Uncinula*-Fruchtkörper aufgefaßten und unter dem Namen *Uncinulites Baccarini* beschriebenen pilzlichen Gebilde sind nach Salmons Ansicht nichts anderes als Sporen einer *Cercospora*-Art, wie aus dem Vergleich mit *Cercospora acerina* Hartig hervorgeht. Verf. nennt den Pilz daher *Cercosporites*. Neger (Eisenach).

v. Tubeuf, Zur Kenntnis des Pfeifengrases (*Molinia caerulea*). (Naturwissensch. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Jahrg. I. Heft 6. p. 238–246.)

In dieser Abhandlung, welche die Biologie des Pfeifengrases behandelt, ist folgendes von mykologischem Interesse:

Molinia caerulea besitzt eine wohlausgebildete endotrophe Mykorrhiza, indessen scheint die Pflanze zu den fakultativ mykotropen Pflanzen zu gehören, denn zuweilen fehlte jede Spur einer

Wurzelverpilzung; die pilzführenden Zellen liegen außerhalb der Endodermis. Eine ektotrophe Mykorrhiza wurde niemals beobachtet.

Die Versuche des Verf., welche den Zweck haben, zu ermitteln, ob *Molinia* mittelst ihrer endotrophen Mykorrhiza den Luftstickstoff ausnutzt, sind noch nicht abgeschlossen; sie scheiterten bisher an Kulturschwierigkeiten. Neger (Eisenach).

Montemartini, L., *Uredo aurantiaca* n. sp. Nuova Uredinea parassita delle Orchidaceae. (Separat aus Atti d. Istituto Botanico di Pavia. [2]. VIII. 1902. 3 p. Mit 1 Taf.).

Auf den Blättern eines *Oncidium Cavendishianum* Batem. fand Verf. eine Uredinee, die sich auf derselben Pflanze immer weiter verbreitet, obwohl sie nur die *Uredo*-Form aufweist, offenbar, weil die Wirtspflanze eine immer grüne ist, so daß der Generationswechsel entbehrlich geworden ist. Morphologisch bietet diese neue Uredinee nichts Besonderes. Die kleinen, gelben, staubigen Sporenlager sind von keinen Flecken umgeben, wenigstens bis zum spätesten Alter. In den Sporenlagern entwickeln sich zwischen den Basidien starke, lange Paraphysen, den nach Verf. eine mechanische Bedeutung bei dem Aufblähen und dem Zerreißen der Epidermis zukommt. Die neue *Ur. aurantiaca* getaufte Art unterscheidet sich von *Ur. Oncidii* Hennings, der einzigen auf *Oncidium* bekannten Uredinee, durch das Fehlen einer Fleckenbildung um die Sporenlager, die Anwesenheit der oben erwähnten Paraphysen und die schwache Entwicklung des vegetativen Körpers. Diagnose ist beigegeben.

Pantanelli (Leipzig).

v. Schrenk, Hermann, The „Bluing“ and the „Red Rot“ of the Western Yellow Pine, with special reference to the Black Hills Forest Reserve. (U. S. Department of Agriculture. Bureau of Plant Industrie. Bulletin No. 36. Washington 1903. 40 pp. und 14 zum Teil kolorierte Tafeln.)

In Süd-Dakota sind große Bestände der gelben Kiefer (*Pinus ponderosa*) durch den Kiefernborckenkäfer *Dendroctonus ponderosae* Hopk. vernichtet worden. Verf. beschreibt des Näheren 2 Pilze *Ceratostomella pilifera* (Fr.), *Winter* und *Polyporus ponderosus* n. sp., welche sich an dem vom Borkenkäfer befallenen Holze ansiedeln und von dem der erste eine Blaufärbung des Holzes, der letztere eine Rotfäule verursacht.

Durch Pilzmycelien verursachte Verfärbungen des Holzes sind schon lange bekannt, so z. B. die Grünfärbung des Holzes der Buchen, Eschen, Roßkastanien etc. durch *Helotium aeruginosum*, des Pappelholzes durch *Propolidium atrocyaneum* Rehm (auf *Tanacetum vulgare* verursacht *Naevia aeruginosa* Rehm, auf Kartoffeln *Fusarium aeruginosum* Delacroix spangrüne Färbung). Nach Vuillemin hat der grüne Farbstoff des *Helotium aeruginosum*, das in Alkalien lösliche „Xylindein“ seinen Sitz in den Hyphen des Pilzes, die Zellwände des Holzes selbst sind farblos, auch werden dieselben nicht zerstört

durch den Pilz, so daß der Ausdruck „Grünfäule“ inkorrekt ist. Eine Blaufärbung des europäischen Kiefernholzes hat zuerst Hartig beschrieben, die durch *Ceratostoma piliferum* (Fr.) Fckl. verursacht wird. Verf. vermutet, daß der Urheber der Blaufärbung des amerikanischen Kiefernholzes (von *Pinus ponderosa*) derselbe Pilz ist, der jetzt *Ceratostomella pilifera* (Fr.) Winter heißt und hat die Entwicklung und Fortpflanzung desselben eingehender beschrieben. Derselbe wird durch Käfer verschleppt, von deren Bohrlöchern aus sich das Mycel und die Blaufärbung durch das Holz verbreitet. Versuche, einen blauen Farbstoff zu extrahieren, mißlingen, wie auch der Pilz, an dessen Hyphen die Blaufärbung ihrer Verbreitung nach zweifellos gebunden ist, in künstlichen Kulturen farblose Hyphen bildet, deren Konidien- und Perithezienbildung beobachtet wurde. Die Härte des Holzes wird durch den Blaupilz nicht wesentlich verändert. Wesentlich anders verhält sich der *Polyporus ponderosus* n. sp., dessen Mycel eine charakteristische Zersetzung des Holzes die Rotfäule verursacht. Derselbe ist nahe verwandt mit dem *Polyporus pinicola* und *P. marginatus*, von denen er sich jedoch durch spezifische Merkmale unterscheidet.

Ludwig (Greiz).

Kovchoff, J., L'influence des blessures sur la formation des matières protéiques non digestibles dans les plantes. (Rev. gén. Bot. T. XIV. 1902. p. 449.)

Bekanntlich nimmt nach Verwundung der Gehalt der Zellen an Eiweiß beträchtlich zu. Verf. erbringt den Nachweis, daß namentlich die nicht verdaulichen Eiweißverbindungen sich stark vermehren.

Küster (Halle a. S.).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

v. Istvánfi, Julius, Ueber grundlegende Versuche zum Schutze gegen *Botrytis* und *Monilia*. [Vortrag, gehalten am 11. März 1903 in der botanischen Sektion der königl. ungar. naturwissenschaftlichen Gesellschaft zu Budapest, kurz wiedergegeben im Magyar botanikai lapok [= Ungarische botanische Blätter]. Jahrg. II. Budapest 1903. No. 4. p. 132—133. [Ungarisch und Deutsch.]

Bordeauxbrühe, 2—5-proz., bei 24-stündiger Einwirkung, tötet die Sporen von *Botrytis cinerea*, *Monilia fructigena* und *Coniothyrium Diplodiella* nicht, wohl aber eine 0,5-proz. Lösung von Calciumbisulfid, wenn nur wenig (50—60) Sporen im Tropfen enthalten sind. Vortragender berechnet hierauf die im Verhältnisse zum Lebendgewicht der Sporen nötige Menge des wirksamen Mittels; dadurch kann dann die nötige Konzentration des Schutzmittels festgestellt werden. Man kann sogar mit Hilfe des obigen Bisulfids Schnelltötungen innerhalb 15—20 Minuten erzielen.

Matouschek (Reichenberg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Dhingra, M. L., Elementary bacteriology. London (Longmans) 1903. M. III.

3,45 M.

Neveu-Lemaire, Précis de parasitologie animale. Paris (Rudeval) 1903. 301 Fig.

3,60 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Molisch, Hans, Bakterienlicht und photographische Platte. Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien 1903. 20 p. Wien, Gerold. sep. 8°. 3 Taf. 1,20 M.**Reinsch, P. F.**, Neue Methode der Darstellung von Horizontalschnitten dünner mehrschichtiger vegetabler Flächengewebe. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 28—33. 2 Fig.)**Schuberg, A.**, Fläschchen für Immersionsöl. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 17—20.)**Streng, Osw.**, Zur Züchtung der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 6. p. 598—601. 4 Fig.)**von Tompa, Arthur**, Zwei botanische Tinktionsmethoden. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XX. 1903. Heft 1. p. 24—28.)**Wiener, E.**, Ein Apparat zur Züchtung von Mikroorganismen in beweglichen flüssigen Medien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 6. p. 595—597. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Besredka, Les hémolysines bactériennes. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année I. 1903. N. 14. p. 537—542.)**Coderey, J.**, A propos du mildiou. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVI. 1903. N. 17. p. 485—488.)**Conn, H. W.**, Bacteria in milk. London (Rebman) 1903. 6,90 M.**Diedicke, H.**, Ueber den Zusammenhang zwischen Pleospora- und Helminthosporium-Arten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 2. p. 52—59.)**Dufour, J.**, Encore le mildiou. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVI. 1903. N. 15. p. 438—440.)

—, Mildiou. (Chronique agricole du canton de Vaud. Année XVI. 1903. N. 17. p. 485.)

Houard, C., Recherches anatomiques sur les galles de tiges (pleuroécidies). Lille, Paris 1903. 281 p. 8°.

Insect and fungoid pests. (Journ. of the Depart. of agric. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 1. p. 20—25.)

Lounsbury, C. P., The fowl tick. Studies on its life cycle and habits. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXIII. 1903 N. 3. p. 261—273. 3 Taf.)**Löwit, M. und Schwarz, Karl**, Ueber Bakterizidie und Agglutination im Normalblute. (Ztschr. f. Heilk. Bd. XXIV. 1903. Heft 8. p. 206—249.)**(Macfadyen, A.)**, Ueber symbiotische Gärungen. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 34. p. 386—388; Journal federated Institutes of brewing. 1903. p. 2.)**Mayus, Oscar**, Die Peridienzellen der Uredineen in ihrer Abhängigkeit von Standortverhältnissen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 22/23. p. 700—721. 27 Fig.)**Mereshkowsky, S. S.**, Ueber die Einwirkung der Anilinfarben auf Invertin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 2. p. 33—45.)**Mesnil, Félix**, Les travaux récents sur les coccidies. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année I. 1903. N. 13. p. 505—510.)**Moser, Paul und v. Pirquet, Clemens Frh.**, Zur Agglutination der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 6. p. 560—566. 2 Fig.)**Poskin**, Les insectes ravageurs des gains en magasin. (Bull. de l'agricult. Bruxelles. Année XIX. 1903. Livr. 4. p. 532—557.)**Richter, A. A.**, Kritische Bemerkungen zur Theorie der Gärung. (Journ. f. exper. Landwirtsch. St. Petersburg. 1903. N. 4. p. 269—284.) [Russ.]

- Rodella, Antonio**, Ueber das regelmäßige Vorkommen der verschiedenen Typen der streng anaëroben Buttersäurebacillen in Hartkäsen. II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 24/25. p. 753—755.)
- Rosenberger, Randle, C.**, Bacteriology of the blood. (American Journ. of the med. sc. Vol. CXXVI. 1903. N. 2. p. 234—257.)
- Rosenstiehl, A.**, Einfluß der Farb- und Gerbstoffe auf die Tätigkeit der Hefen. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 34. p. 402—404; Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVI. 1903. N. 33.)
- Ross, Ronald**, Insect-borne parasites. (Journ. of the sanitary inst. Vol. XXIV. 1903. P. 2. p. 241—250. 6 Fig.)
- Rubner**, Ueber die Wärmebildung durch Mikroorganismen und über die Methodik einer quantitativen Wärmemessung. (Hyg. Rundsch. Jg. XIII. 1903. N. 17. p. 857—864.)
- Schut, jr. J.**, Ueber das Absterben von Bakterien beim Kochen unter erniedrigtem Druck. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. Heft 2. p. 323—358. 1 Taf.)
- Sébastien, Victor**, Fermentation du sucre de Canne. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 62. p. 248.)
- Tangl, F.**, Beiträge zur Energetik der Ontogenese. 2. Mitt. Ueber den Verbrauch an chemischer Energie während der Entwicklung von Bakterienkulturen. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. XCVIII. 1903. Heft 11/12. p. 475—546. 2 Fig.)
- Tissier, Henry et Gasching, Pascal**, Recherches sur la fermentation du lait. Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 8. p. 540—563.)
- Vayssière, A. et Gerber, C.**, Recherches cécidologiques sur *Cistus albidus* L. et *Cistus salviflorus* L. croissant aux environs de Marseille. (Compt. rend. Acad. franç. pour l'avanc. des sc. 31. sess. Montauban 1902. Partie 2. 1903. p. 616—657. 29 Fig.)
- Vogel, Otto E.**, Die Seuche unter den Agoni des Lago di Lugano (Colibacillosis *Alosa* finta). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. Heft 2. p. 281—322.)
- Vuillemin, Paul**, Une acariée bactériophage. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXVII. 1903. N. 6. p. 387—389.)
- Weis, Fr.**, Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 33. p. 539—542; N. 34. p. 555—559; N. 36. p. 587—591; N. 37. p. 612—616.)
- Will, H.**, Beiträge zur Kenntnis der Sproßpilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 22/23. p. 689—700.)
- Zikes, Heinrich**, Die Wachstumserscheinungen von *Bacterium Zopfii* auf Pepton-gelatine. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 2. p. 59—61.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Luft, Wasser, Boden.

- Giemsa, G.**, Trinkwasserverhältnisse und Trinkwasseruntersuchungen in den Kolonien. Ein neuer Reagenzkasten für die Tropen. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. VII. 1903. N. 10. p. 447—471.)
- Schattenfroh, A.**, Untersuchungen in einer Grundwasserversorgungsanlage. (Ztschr. f. Heilkunde. Bd. XXIV. 1903. Heft 8. p. 228—247.)
- Sestini, L.**, La conservation de l'eau potable à bord des navires de guerre. Traduction abrégé par Santelli. (Arch. de méd. navale. T. LX. 1903. N. 9. p. 207—219.)

Fleisch.

- Ostertag, R.**, Leitfaden für Fleischbeschauer. Eine Anweisung für die Ausbildung als Fleischbeschauer und für die amtlichen Prüfungen. 6. ergänzte Aufl. Berlin (Schötz) 1903. XII, 229 p. 150 Fig. 6,50 M.

Milch, Molkerei.

- Friedjung, Josef K. und Hecht, Adolf Franz**, Ueber Katalyse und Fermentwirkungen der Milch. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXXVII. 1903. Heft 3/4. p. 177—239.)

Bommel, Otto, Ueber Buttermilch. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXXVII. 1903. Heft 3/4. p. 252—265.)

Wein, Weinbereitung.

Descloseaux, J., Les vins malades dans le commerce. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 64. p. 256.)

Desmoulins, A. M., Emploi des levures cultivées dans la vinification. (Année XLVIII. 1903. N. 71. p. 284.)

Loir, A., La pasteurisation des vins et la lutte anti-alcoolique. (Compt. rend. assoc. franç. pour l'avanc. d. sc. Montauban 1902. Partie 2. Paris 1903. p. 1231—1240.)

Scala, Hermenegild, Die Weinbereitung in südlichen Weinbaugebieten. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 32. p. 319—321; N. 33. p. 330—332; N. 34. p. 339—341.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Bertarelli, E., Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 2. p. 45—51.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Ghiglione, Gian Carlo, Sul potere disinfettante di alcune vernici da parete. (Giorn. delle R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXV. 1903. N. 8. p. 385—404.)

Kausch, Vorrichtungen zur Sterilisation mittels Wasserdampfes. Zusammenfassende Uebersicht. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. 1903. p. 757—767. 11 Fig.)

Romeick, Regelung des Desinfektionswesens im Kreise und Absonderungsverfahren. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVI. 1903. N. 18. p. 649—655.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.; Pflanzenschutz.

Cobb, N. A., Letters on the diseases of plants. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 7. p. 627. Fig.)

Delacroix, G., Sur quelques processus de gommification. (Compt. rend. acad. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 4. p. 278—279.)

Dementjew, A. M., Neue Pflanzenparasiten, welche die Chlorose der Weinrebe verursachen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 2. p. 65—82. 19 Fig.)

Dumuid, H., Les maladies de la vigne en 1903. (Journ. d'agricult. Suisse. Année XXV. 1903. N. 36. p. 293—297.)

Eriksson, Jakob, Einige Studien über den Wurzeltöter (*Rhizoctonia violacea*) der Möhre mit besonderer Rücksicht auf seine Verbreitungsfähigkeit. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 22, 23. p. 721—738. 3 Fig.)

—, Einige Studien über den Wurzeltöter (*Rhizoctonia violacea*) der Möhre, mit besonderer Rücksicht auf seine Verbreitungsfähigkeit. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 24/25. p. 766—775. 1 Taf. u. 4 Fig.)

Ewert, Das Auftreten von *Cronartium ribicolum* auf verschiedenen *Ribes*-Arten in den Anlagen des Kgl. Pom. Instituts zu Proskau. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 2. p. 92—93.)

Garden and orchard crops—their pests and remedies. (Journ. of the Depart. of agric. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 1. p. 25—32.)

Guiraud, D., La défense contre les maladies cryptogamiques. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 62. p. 248.)

van Hall, C. J. J., Das Faulen der jungen Schößlinge und Rhizome von *Iris florentina* und *Iris germanica* verursacht durch *Bacillus omnivorus* v. Hall und durch einige andere Bakterienarten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 3. p. 129—144. 5 Fig.)

Hiltner, L., Bericht über die von der Agrikulturbotanischen Anstalt durchgeführten Versuche zur Bekämpfung der Feldmäuse. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 9. p. 97—102. 1 Fig.)

Iwanowski, D., Ueber die Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 1. p. 1—41. 3 Taf.)

K. P., Ueber den Stand der Reblausverseuchung in einzelnen Kantonen der Schweiz im Jahre 1902. Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 36. p. 424—425.)

—, Der Stand der Reblausinfektion in Italien mit Ende des Jahres 1901. Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 37. p. 435—437.)

- K.**, Le phylloxera en 1902. (Journ. d'agricult. Suisse. Année XXV. 1903. N. 34. p. 276—280.)
- Krasser, Fridolin**, Ueber verschiedene Krankheiten des Reblaubes. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. No. 31, 32, 33. p. 385—387; N. 37. p. 433—435.)
- Kellermann**, Kranke Selleriepflanzen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 9. p. 104—105.)
- , Auftreten des Kohlkropfes. (Plasmodiophora brassicae.) (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 9. p. 103—104. 1 Fig.)
- Langenbeck, E.**, Gemeinschaftliche Bekämpfung des Getreidebrandes. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 9. p. 105—107.)
- Lounsbury, C. P.**, Bryobia mite. Remedies for the „Red Spider“ pest. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXIII. 1903. N. 2. p. 179—184. 1 Fig.)
- Marchal, E.**, Die wesentlichsten Ergebnisse einer Umfrage über den Getreiderost in Belgien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 3. p. 145—147.)
- Noack, F.**, Kurze Mitteilungen über Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 3. p. 162—167.)
- Osterwalder, A.**, Peronospora auf Rheum undulatum L. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. 1903. N. 24/25. p. 775—777. 3 Fig.)
- Ripe rot. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 7. p. 628—652. 2 Taf. u. 44 Fig.)
- Ritzema Bos, J.**, Der Brand der Narzissenblätter. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 2. p. 87—92.)
- Stand der Reblausverbreitung in Oesterreich im Jahre 1901. [Schluß.] (Allg. Weinztg. Jg. XX. 1903. N. 33. p. 330—331; N. 37. p. 370—371.)
- Tancré**, Ueber das Auftreten von Blattrost auf verschiedenen Weizensorten. (Landw. Wehnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. LIII. 1903. N. 35. p. 744—750.)
- Thiele, R.**, Die gebräuchlichsten Blutlausvertilgungsmittel. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 3. p. 147—157.)
- Un étrange parasite du caféier. (Rev. des cultures colon. Année VII. T. XIII. 1903. N. 132. p. 144—146. [Teysmannia. T. XIV. 1903. N. 4.]
- Wagner, J. Th.**, Un ennemi dangereux de la luzerne. (Journ. d'agric. pratique. Année LXVII. 1903. N. 37. p. 341—342.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Appel**, Zur Kenntnis der Ueberwinterung des Oidium Tuckeri, p. 143.
- van Delden, A.**, Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien. (Schluß), p. 113.
- Palladin, W.**, Ueber normale und intramolekulare Atmung der einzelligen Alge Chlorothecium saccharophilum, p. 146.
- Troili-Petersson, Gerda**, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses, p. 120.

Referate.

- Henneberg, W.**, Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennermaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens, p. 154.
- Kovchoff, J.**, L'influence des blessures sur la formation des matières pro-

téiques non digestibles dans les plantes, p. 172.

- Molliard, M.**, Rôle des bactéries dans la production des périthèces des Ascoboles, p. 153.
- Montemartini, L.**, Uredo aurantiaca n. sp. Nuova Uredinea parassita delle Orchidaceae, p. 171.
- Salmon, E. S.**, Cercosporites sp., a new fossil fungus, p. 170.
- v. Schrenk, Hermann**, The „Bluing“ and the „Red Rot“ of the Western Yellow Pine, with special reference to the Black Hills Forest Reserve, p. 171.
- v. Tubeuf**, Zur Kenntnis des Pfeifengrases (Molinia caerulea), p. 170.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- v. Istvánffi, Julius**, Ueber grundlegende Versuche zum Schutze gegen Botrytis und Monilia, p. 172.

Neue Litteratur, p. 173.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U.S.A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 9. Dezember 1903.

No. 6/7.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben.

Von **W. Omellanski.**

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im
Kaiserl. Inst. f. experimentelle Medizin in Petersburg.]

Mit 1 Tafel.

Wollen wir jenes unermessliche Zersetzungswerk, welches überall und unaufhaltsam im Erdboden vor sich geht, in seinem Gesamtwesen charakterisieren, so müssen wir dasselbe als allmähliche Mineralisation der organischen Stoffe bezeichnen. Zur Ausführung dieser Arbeit verfügt die organische Welt über einen

Zweite Abt. Bd. XI.

12

wahrhaft unerschöpflichen Vorrat an mannigfaltigen Agentien in Gestalt der verschiedenartigen Mikroorganismen, die die Erdoberfläche bevölkern. Mit Hilfe derselben werden die komplizierten und meistens unlöslichen organischen Stoffe, welche als pflanzliche und tierische Kadaver in den Erdboden gelangen, einer Reihe von successiven Veränderungen unterworfen und in mehr und mehr einfache Verbindungen übergeführt. Unter günstigen Bedingungen führt dieser Vorgang zur vollständigen Mineralisation des Ausgangsmaterials, d. h. zur Verwandlung desselben in Wasser, Kohlensäure, Ammoniak, Salpetersäure, Stickstoff, Wasserstoff, Methan u. dergl.

Je näher dem Anfange dieses Prozesses, um so größer ist in der sich zersetzenden Substanz der Energievorrat, und um so größer ist auch deren Nährwert. Dementsprechend ist auch die Menge der Mikroorganismen, welche dieselbe angreifen können, zahlreicher und mannigfaltiger. Je weiter der Prozeß fortgeschritten ist, je tiefer der Zerfall der Molekel der organischen Substanz, um so geringer ist ihr Nährwert, und um so enger ist der Kreis der Mikroben, die auf ihre Kosten emporwachsen können.

Als eine besonders interessante Aufgabe erschien uns das Studium der Endphasen dieser langen Kette aufeinanderfolgender Verwandlungen, jener finalen Vorgänge, welche schließlich zur vollständigen Mineralisation des organischen Stoffes führen. Zum Gegenstande unserer Untersuchung wählten wir für diesmal die Zersetzung organischer Säuren, welche ja durch Einwirkung der Mikroben auf die mannigfaltigsten organischen Stoffe, wie Proteine, Kohlenhydrate, höhere Alkohole u. dergl., regelmäßig entstehen. Dem soeben Gesagten entsprechend, interessierte uns besonders das Schicksal der Säuren von einfacherer Zusammensetzung, deren Nährwert überhaupt klein, in einigen Fällen aber geradezu fraglich ist. Dahin gehören die einfachsten Säuren der Fettreihe, die Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure u. s. w.

Daß im Erdboden auch Agentien für die Zerstörung dieser als Nährstoffe relativ minderwertigen Substanzen vorhanden sein müssen, ist schon deshalb unzweifelhaft, weil viele derselben, obwohl sie als gewöhnliche Zersetzungsprodukte bei mannigfachen Gärungen auftreten, dennoch im Erdboden sich niemals in einigermaßen erheblichen Mengen anhäufen. Wenn es bei Prozessen, die mit Produktion organischer Säuren verbunden sind, an den nötigen Mengen von Basen fehlt, um diese Säuren zu neutralisieren, so wird das Substrat häufig sauer, und es werden Bedingungen geschaffen, welche das Emporwachsen von Schimmelpilzen begünstigen, insbesondere wenn die Luft ungehinderten Zutritt hat. Es ist sehr wahrscheinlich, daß unter dem Einflusse dieser energischen, oxydierenden Agentien auch die einfachsten organischen Säuren bis zu CO_2 und H_2O verbrennen. Aber derartige Bedingungen, d. h. ungehinderter Luftzutritt bei schwach saurer Reaktion, sind bei weitem nicht immer vorhanden. Oft geht die Zersetzung organischer Substanzen, wenn auch nicht bei vollkommener Abwesenheit von Sauerstoff, so doch jedenfalls unter sehr behindertem Luftzutritt, sowie in neutralem oder schwach alkali-

schem Medium von statten. Gerade derartige Bedingungen sind wir berechtigt, bei der Zersetzung irgendwo im Innern eines Düngerhaufens, in schlammigem oder kompaktem Erdboden u. dergl. voranzusetzen. Welches wird nun in diesem Falle das Schicksal der organischen Säuren? Werden sich im Erdboden Mikroben finden, die auch unter den genannten Bedingungen die erwähnten Säuren zu zersetzen vermögen?

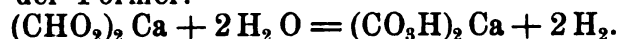
Das sind die Fragen, welche uns vorschwebten, als wir unsere Untersuchung unternahmen. Wir wählten den einfachsten Repräsentanten der organischen Säuren, welcher der Kohlensäure am nächsten steht — die Ameisensäure — und machten es uns zur Aufgabe, dasjenige Agens zu suchen, welches den Zerfall derselben bei behindertem Luftzutritt bewerkstelligt.

Es gibt, vom chemischen Standpunkte aus, 2 Grundtypen für den Zerfall der Ameisensäure, welche schematisch auf folgende Weise dargestellt werden können:

- 1) $\text{HH}:\text{OOC} = \text{H}_2 + \text{CO}_2$
- 2) $\text{HHO}:\text{OC} = \text{H}_2\text{O} + \text{CO}.$

Nach dem ersten Typus erfolgt die Zersetzung bei der katalytischen Wirkung von Platinmoor¹⁾ und fein gefälltem Rhodium und Iridium²⁾, nach dem zweiten unter Einfluß von wasserentziehenden Stoffen, z. B. konzentrierter Schwefelsäure. Es sind auch gemischte Zersetzungstypen bekannt, z. B. unter Bildung von CO und H₂ (Erhitzen mit Zinkstaub), oder von CO, CO₂ und H₂ (Erhitzen mit Wasser von 100—175°).

Nach welchem der oben genannten Typen erfolgt nun der Zerfall der Ameisensäure unter dem Einflusse der Mikroorganismen? Darüber besitzen wir schon einige bestimmte Angaben. In seiner Arbeit über die Methangärung der Essigsäure erwähnt Hoppe-Seyler³⁾ nebenbei, daß bei der Impfung mit Schlamm auch ameisen-saures Calcium unter Bildung von saurem kohlensaurem Calcium und unter Entwicklung von freiem Wasserstoff zersetzt werde, nach der Formel:



Nach der Meinung Hoppe-Seyler's „kann man sich von der Einwirkung der Spaltpilze auf Acetat kaum eine andere Vorstellung machen, als daß die Protoplasmen derselben einen dem fein verteilten Rhodium entsprechenden Einfluß auf das Acetat wie auf Formiat ausüben, der wahrscheinlich mit den eigentlichen Lebensvorgängen desselben, nämlich Bildung ihrer Körpersubstanz, Entwicklung ihrer Zellen u. s. w., in keinem nahen Zusammenhang steht“⁴⁾.

Der nämliche Typus der Ameisensäurezersetzung wird in einer neueren Arbeit von Pakes und Jollyman⁵⁾ beschrieben.

1) Berthelot, Compt. Rend. T. LIX. 1864.

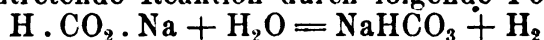
2) Deville et Debray, Compt. Rend. T. LXXVIII. p. 1782.

3) Hoppe-Seyler, Die Methangärung der Essigsäure. (Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XI. 1887. p. 561.)

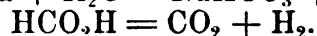
4) l. c. p. 566.

5) Pakes, W. C. C. and Jollyman, W. H., The bacterial decomposition of formic acid. (Proc. chem. Soc. 17, 29.)

Nach den Beobachtungen dieser Forscher wird Ameisensäures Natron durch die Einwirkung der Bakterien unter Entbindung von Wasserstoff und Kohlensäure und unter Bildung von Natronbikarbonat zersetzt. Es erwies sich, daß die Gesamtmenge der Kohlensäure, d. h. der in gasförmigem Zustande ausgeschiedenen, sowie der gebundenen, an Volumen gleich war der Menge des ausgeschiedenen Wasserstoffes. Auf Grund dieser Tatsache drücken die Autoren die hierbei eintretende Reaktion durch folgende Formel aus:



oder



In der angeführten kurzen Notiz finden sich keine Angaben darüber, unter welchen Bedingungen die Gärung vor sich geht, ob dieselbe bis zu Ende verläuft, von Entwicklung irgend welcher Nebenprodukte begleitet ist, u. s. w. Auch ist nichts angegeben über die dabei wirksamen Mikroben.

Auf diese letzte Frage gibt uns die sorgfältige Arbeit Maassens¹⁾, welcher das Verhalten einer ganzen Reihe von Mikroben gegen organische Säuren untersuchte, Auskunft. Bezüglich ihrem Verhalten der Ameisensäure gegenüber können die Mikroben in mehrere Gruppen eingeteilt werden, welche durch allmähliche Uebergänge miteinander verbunden sind. Einige der von ihm untersuchten Mikroben, wie z. B. *Bac. acidilactici*, *Bac. cyanogenes*, *Bac. diphtheriae columbarum*, *Bac. fluorescens*, *Bac. fluorescens putidus*, *Bac. prodigiosus*, *Bac. pyocyaneus*, *Proteus vulgaris* u. a. zersetzen die Ameisensäure relativ energisch, während andere geringere Befähigung zu dieser Funktion an den Tag legen, wie z. B. *Bac. pneumoniae* Friedländer, *Bac. typhi abdominalis*, *Bact. coli commune*, *Bact. lactis aërogenes* u. a., und etliche schließlich, wie *Bac. diphtheriae hominum*, *Bac. cholerae asiaticae* u. a. der Ameisensäure gegenüber ein vollkommen negatives Verhalten zeigen; für die letztgenannten Bakterien ist dieselbe nicht nur eine unbrauchbare, sondern sogar eine schädliche Substanz.

Maassen bediente sich bei seinen Untersuchungen eines Nährbodens von folgender Zusammensetzung:

- 10 g Pepton,
- 1,5 „ primäres Kaliumphosphat (KH_2PO_4),
- 1,0 „ Chlornatrium und
- 0,3 „ Magnesiumsulfat.

Diesem Nährboden wurden organische Säuren in einer Quantität, die dem Zehntel ihres Molekulargewichts gleich kam, zugesetzt, also an Ameisensäure 4,6 g, was einem Zusatz von 8,6 g Ameisensäuren Natrons ($\text{NaHCO}_2 + \text{H}_2\text{O}$) entspricht.

Einige Beziehung zu unserem Thema hat auch die kleine Arbeit O. Loew's²⁾, worin derselbe einen besonderen Bacillus be-

1) Maassen, A., Die organischen Säuren als Nährstoffe und ihre Zersetzbarkeit durch Bakterien. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XII. 1896. p. 340.)

2) Loew, O., Ueber einen Bacillus, welcher Ameisensäure und Formaldehyd assimilieren kann. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 462.)

schreibt, den er als *Bacillus methylicus* bezeichnet wegen seiner Fähigkeit, in Lösungen von Methylalkohol und dessen Derivaten — dem Formaldehyd (genauer dessen Verbindung mit saurem schwefligsaurem Natron) sowie der Ameisensäure zu wachsen. Loew erhielt Kulturen dieses Bacillus, indem er Gefäße, die 0,5-proz. Lösungen von Methylalkohol oder den oben erwähnten Derivaten des Formaldehyds oder sogar Pepton (?) enthielten, offen an der Luft stehen ließ. Der *Bac. methylicus*, welcher das Aussehen kurzer Stäbchen von 1 μ Breite und 2—2,5 μ Länge hat, entwickelt sich gut unter aëroben Bedingungen bei 16—18° C auf 0,5-proz. Lösung von ameisensaurem Natron. Leider beschränkt sich der Autor auf die Beschreibung der Kulturen, ohne sich mit denjenigen Veränderungen zu beschäftigen, welche durch die Tätigkeit dieses Bacillus im Substrate hervorgerufen werden; ja ohne anzugeben, ob bei der Entwicklung des Mikroorganismus auf ameisensaurem Natron eine Zunahme der Alkaleszenz beobachtet wird, Gasabscheidung stattfindet u. dergl.

Nach den neuerdings veröffentlichten Daten Katayamas¹⁾ findet sich der *Bac. methylicus* in verschiedenen Bodenarten Japans und gehört derselbe wahrscheinlich zu den überall verbreiteten Bodenmikroben.

Aus dem gegebenen kurzen Abrisse der Literatur über diese Frage ist ersichtlich, daß die Fähigkeit, Ameisensäure (in Kohlensäure und Wasserstoff) zu spalten, sehr vielen Mikroben in größerem oder geringerem Maße eigen ist, doch ist diese Funktion, soviel man nach den vorhandenen Daten urteilen konnte, bei den meisten derselben nur relativ schwach ausgeprägt. Es erschien uns daher als eine nicht uninteressante Aufgabe, im Erdboden oder Dünger einen Mikroorganismus zu suchen, der die in Rede stehende Funktion stärker ausgeprägt besäße, und welcher daher als Ameisensäureferment *par excellence* gelten könnte.

Wie in unseren früheren Arbeiten, bedienten wir uns der Methode der elektiven Kultur.

Die Anwendung des Kalksalzes, statt des Natronformiats, bietet den Vorteil, daß die Zersetzung der Ameisensäure hier zur Ausfällung des Kalkkarbonates führen würde, und man hätte dann ein äußeres Kennzeichen des stattfindenden Prozesses; andererseits wird dabei die Gefahr einer übermäßigen Steigerung der Alkaleszenz der Lösung, wie es bei Anwendung eines ameisensauren Alkalisalzes der Fall sein würde, vermieden.

Als Ausgangsmaterial zur Impfung wurde Pferdemist verwendet. Bekanntlich sind im Darmkanale der Pflanzenfresser Prozesse, die mit der Bildung der niederen Fettsäuren einhergehen, sehr verbreitet. Es läßt sich daher wohl annehmen, daß auch Agentien für den Zerfall dieser Säuren unter der Bakterienflora des Darmkanales vertreten sein werden. Wie wir weiter unten sehen werden, erwies sich unsere Wahl als glücklich, insbesondere

1) Katayama, T.. On the general occurrence of *Bacillus methylicus* in the soil. (Bull. of the Coll. of Agricult. Tokyo Imp. Univ. Vol. V. No. 2.)

wenn wir uns alten Düngers bedienten, der lange Zeit in Haufen gelegen hatte.

Die ersten Versuche, die wir mit der oben beschriebenen Lösung anstellten, ergaben keine günstigen Resultate. Trotz wiederholter Bemühungen, unter verschiedenen Bedingungen bezüglich Temperatur, Luftzuführung u. dergl. die Kultur vorzunehmen, ließ sich in keinem einzigen Falle eine Zersetzung des Salzes beobachten. Und wenn auch in einzelnen Fällen ein schwaches Wachstum von Mikroorganismen erzielt wurde, so erfolgte dasselbe gewiß nicht auf Kosten der Ameisensäurezersetzung, da diese Substanz unberührt blieb.

Dieser Mißerfolg in unseren ersten Kulturversuchen veranlaßte uns, die Zusammensetzung des Substrates ein wenig zu ändern. Zunächst versuchten wir, in der Absicht, außer der Ameisensäure keine anderen organischen Stoffe in der Lösung zu haben, das Ammonsulfat durch Ammonnitrat zu ersetzen, doch ohne Erfolg.

Da verzichteten wir auf das Ammonsalz und versetzten das Leitungswasser mit 0,1 Proz. Pepton. Aber auch mit dieser Lösung gaben die ersten Versuche, die unter streng anaëroben Bedingungen ausgeführt wurden, negative Resultate.

Sobald wir uns dann entschlossen, die Kulturen in kleinen Erlenmeyerschen Kolben, die zur Hälfte oder zu einem Drittel mit der oben erwähnten Lösung angefüllt waren, unter Luftzutritt zu halten, konnten wir die ersten positiven Resultate wahrnehmen. Die Flüssigkeit in den Kolben trübte sich durch reichliche Entwicklung von Mikroorganismen, und es trat Gärung auf mit Gasausscheidung und Ausscheidung von Kaliumkarbonat am Boden und an den Wänden des Gefäßes.

Obwohl der Prozeß ziemlich langsam verlief, unterlag es doch keinem Zweifel, daß eine Zersetzung der Ameisensäure von statten ging. Unter den genannten Bedingungen konnte die Kultur eine Reihe von Generationen hindurch fortgeführt werden, ohne daß dieselbe ihre typischen Merkmale einbüßte.

Wir wollen einige Beispiele anführen:

Am 14. September 1901 wurde ein kleines Erlenmeyersches Kölbchen mit einem Stückchen Pferdemit infiziert. Nach 10 Tagen machte sich in der Flüssigkeit deutliche Gasentwicklung bemerkbar, verbunden mit Kreideablagerung am Boden und an den Wänden des Gefäßes, sowie mit der Bildung eines Häutchens auf der Oberfläche der Flüssigkeit.

Am 19. Oktober wurde unter denselben Bedingungen übergeimpft. Am 5. November Gärung.

Am 10. November Ueberimpfung. Am 22. November Gärung.

Aus dem angeführten Beispiele ersehen wir, daß die Zersetzung der Ameisensäure unter den von uns gewählten Bedingungen sehr langsam von statten geht, und eine lange Inkubationszeit derselben vorausgeht. Um die Gärung zu beschleunigen, erhöhten wir den Peptongehalt bis 0,2 Proz.

Abimpfung mit dieser neuen Nährlösung an:

Am 23. September 1902 wurden zwei 0,2 Proz. Pepton ent-

haltende Erlenmeyersche Kolben mit altem Kuhmist (aus dem Misthaufen) geimpft. Am 26. September in beiden Kolben Anfang der Gärung.

Am 2. Oktober Abimpfung unter gleichen Bedingungen. Anfang der Gärung nicht notiert. Am 15. Oktober gute Gärung unter Gasentwicklung und Kreideablagerung.

Bei einer weiteren Steigerung des Peptongehaltes war keine deutliche Beschleunigung der Gärung mehr zu bemerken; wir beschränkten uns daher in den folgenden Versuchen auf den zuletzt genannten Peptonzusatz.

Den Prozeß der Ameisensäurezersetzung hervorzurufen, bietet also keine Schwierigkeit. Man braucht nur mit einer Lösung von 2 Proz. ameisensaurem Calcium und 0,2 Proz. Pepton in Leitungswasser ein Erlenmeyersches Kölbchen zu einem Drittel zu füllen und mit altem Mist zu impfen. Bei 35° C tritt dann gewöhnlich nach 1—2 Wochen, je nach der Größe der Impfung, Gärung ein, begleitet von Gasausscheidung und Bildung der charakteristischen Kreideablagerung am Boden und an den Wandungen des Gefäßes, sowie auch des Kreidehäutchens an der Oberfläche der gärenden Flüssigkeit. Auf dem Photogramm 7 ist dieser charakteristische Kreidebelag, welcher den Boden und die Wandungen des Erlenmeyerschen Kölbchens bis zum Niveau der Flüssigkeit bedeckt, deutlich sichtbar.

Somit war der erste Teil unserer Aufgabe gelöst. Wir hatten Bedingungen gefunden, unter denen der Mikroorganismus, der die Ameisensäure zersetzt, gezüchtet und eine Reihe von Generationen hindurch fortgepflanzt werden kann. Es stand uns nun bevor, sein Aussehen kennen zu lernen, ihn in Reinkultur zu isolieren und seine morphologischen und physiologischen Eigenschaften zu studieren.

Bereits als wir die Kulturen der ersten Abimpfungen unter dem Mikroskop untersuchten, gewahrten wir, daß in denselben ein kurzer Bacillus, der keine Sporen bildet und sich gut mit Anilinfarben färben läßt, vorherrschte. Dieser Bacillus wächst, wie wir später sehen werden, vortrefflich aërob auf den üblichen Bouillonnährböden, so daß seine Reindarstellung keine weiteren Schwierigkeiten bietet. In den Reinkulturen ging der Prozeß der Ameisensäurezersetzung vollkommen analog dem soeben geschilderten von statten, und es konnte daher keinem Zweifel mehr unterliegen, daß wir gerade denjenigen Bacillus in Reinkulturen erhalten hatten, auf welchen wir fahndeten.

Dieser Bacillus, den wir vorschlagen möchten, nach seinem am meisten charakteristischen Merkmale — der Fähigkeit, die Ameisensäure zu zersetzen — *Bacterium formicicum* zu benennen, hat die Gestalt eines kurzen Stäbchens von ca. 0,7—0,8 μ Breite und 2—3 μ Länge und ist dem *Bac. coli* und auch, wie es scheint, dem von Loew beschriebenen *Bac. methylicus* morphologisch sehr ähnlich. Unter gewissen, von uns nicht näher erforschten Bedingungen wird dieser Bacillus auch etwas länger. Er ist beweglich und mit Geißeln versehen. Nach Gram entfärbt er sich.

Auf der am Schlusse dieser Mitteilung beigefügten Photogrammtafel ist Fig. 1 die Aufnahme eines mikroskopischen Präparates einer eintägigen Kultur auf gewöhnlicher Agarbouillon. Färbung mit einer Mischung von Fuchsin und Karbolfuchsin¹⁾. Vergrößerung 1:1000. Auf diesem Präparat übersteigt bei der Mehrzahl der Bacillen die Länge nicht das 2fache der Breite. Die jungen Formen sind fast kokkenartig.

Fig. 8 zeigt ebenfalls das mikroskopische Präparat einer eintägigen Agarkultur. Die Geißeln sind nach Zettnow²⁾ gefärbt. Leider ist es uns nicht gelungen, das Abreißen der Geißeln von den Mikrobenleibern zu verhüten, und ist in dieser Hinsicht das Präparat nicht ganz befriedigend. In jedem Falle ist es unzweifelhaft, daß dieser Bacillus mit mehreren Geißeln versehen ist. Vergrößerung 1:1000.

In Fig. 9, welche gleichfalls das nach Zettnow gefärbte Präparat einer eintägigen Agarkultur darstellt, finden wir ein merkwürdiges Bild. Auf der linken Seite des Photogrammes sieht man die schleimige Masse der Agarkolonie, von welcher einzelne Mikroben sich nach verschiedenen Richtungen entfernt haben, indem sie lange Fäden des ihnen anhaftenden Schleimes nach sich ziehen. Das Präparat ist in der Weise angefertigt worden, daß man auf ein Deckgläschen einen Wassertropfen brachte und in diesen vorsichtig das Ende einer Platinnadel mit dem Schleime der Agarkultur eintauchte. Hierbei zerstreuen sich die Mikroben dank ihrer Beweglichkeit über das ganze Präparat hinaus. Vergrößerung 1:1000.

Das *Bacterium formicicum* gehört zu den fakultativen Anaëroben und wächst besonders bei Luftzutritt vorzüglich auf den gewöhnlichen Bouillonnährböden bei 35° C.

In Bouillon unter aëroben Bedingungen erscheint bereits am 2. Tage eine dichte, gleichmäßige Trübung unter Bildung eines dünnen, irisierenden Häutchens auf der Oberfläche. Am 3. oder 4. Tage nach der Impfung beginnt die Kultur einen fauligen Geruch von sich zu geben. In hoher Bouillonschicht bemerkt man am 2. Tage schwache Gasausscheidung, welche bald wieder sistiert. Bei anaërober Kultur in dem von uns vorgeschlagenen Apparate³⁾ zeigt sich nach der Impfung schon am folgenden Tage eine gleich-

1) Nach unseren Erfahrungen ist es bei der Färbung mit Karbolfuchsin zur Vermeidung der Verunreinigung des Präparates durch Farbstoffniederschläge äußerst tunlich, das folgende Verfahren anzuwenden: Auf das trockene Präparat bringt man zunächst einen Tropfen gewöhnlichen Fuchsins, und dann erst, ohne diese Farblösung abzugießen, die nötige Menge Karbolfuchsin. Ist das Gläschen mit der Farbe bis zur Dampfbildung erhitzt, so taucht man es, ohne die Farblösung zuerst zu entfernen, noch heiß in Wasser und wäscht es dann endgültig aus. Bei Beobachtung dieser Vorsichtsmaßregeln werden Präparate erhalten, die nicht durch Fuchsinniederschläge verunreinigt sind.

2) Zettnow, Ueber Geißelfärbung bei Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXX. 1899. p. 95.)

3) Omelianski, W., Ein einfacher Apparat zur Kultur von Anaëroben im Reagenzglase. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 711.)

mäßige Trübung, natürlich ohne Bildung des Oberflächenhäutchens. Nach einigen Tagen beginnt die Trübung sich zu setzen und klären sich die oberen Schichten der Bouillon fast ganz auf.

Auf schräg erstarrtem Agar wachsen am 2. Tage runde, weiße Kolonien mit scharf konturierten Rändern und einem Durchmesser von ca. 2 mm empor. Die Kolonien nehmen schnell an Umfang zu, so daß sie nach 2—3 Tagen eine Größe von 5 mm im Durchmesser erreichen; zugleich tritt im Zentrum der Kolonie Körnung auf. Die älteren Kolonien zeigen an ihrer Peripherie einen etwas erhobenen Rand, so daß sie etwas kraterförmig aussehen (Fig. 2). Bei Impfung durch Stich in hohe Agarschicht erscheint am 2. Tage ein Häutchen an der Oberfläche, sowie Wachstum in Rissen, die dem Stiche parallel laufen, bis auf den Boden. Bei anaërobem Wachstum bildet sich kein Häutchen und macht sich eine schwache Gasentwicklung bemerkbar.

Auf schräg erstarrter Gelatine erscheinen die Kolonien bei 14—15° am 3. Tage als weißliche Tropfen, welche schnell an Ausdehnung gewinnen und nach einem Tage einen Durchmesser von 3 mm erreichen. Die Kolonien sind weiß, mit durchsichtigen, unregelmäßig festonierten Rändern. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. — Bei Stichimpfung in hoher Schicht bildet sich in den ersten Tagen ein Oberflächenschildchen um die Stichstelle herum, sowie schwaches Wachstum längs dem Stiche. Auch hier bemerkt man schwache Gasabsonderung. — Bei anaërobem Wachstum bildet sich auf der Oberfläche kein Häutchen.

Auf Kartoffel wurde das Wachstum unter Luftzutritt, wie auch unter den Bedingungen der Anaërobiose (in Roux'schen Reagenzröhren mit ausgepumpter Luft) geprüft. In beiden Fällen wurden gelblich-braune Kolonien erhalten, nur entwickelten sich dieselben unter aëroben Bedingungen unvergleichlich besser und schneller, wobei das ganze Kartoffellstück sich bräunlich färbte. Bei anaërobem Wuchse wurde dieses nicht beobachtet.

In Milch, welche mit einer Kultur des *Bact. formicicum* geimpft wird, bildet sich sowohl unter aëroben als auch unter anaëroben Bedingungen schon am folgenden Tage ein vorzügliches Kaseïnkogulum.

Das Bakterium reduziert sehr energisch die Nitrate zu Nitriten; aber weiter geht die Reduktion nicht, es bilden sich weder Ammoniak noch freier Stickstoff.

Besonders charakteristisch für den in Rede stehenden *Bacillus* ist sein Wachstum auf Nährböden, die Ameisensäure Salze enthalten.

Wir gebrauchten einen Nähragar folgender Zusammensetzung:

Calciumformiat	2 Proz.
Pepton	0,5 "
Agar	1,5 "
Leitungswasser.	

Am 2. bis 3. Tage nach der Impfung auf die schräge Oberfläche dieses Agars erscheinen kleine braune Kolonien, welche an Größe allmählich zunehmen und sich zugleich mit Kreidekristallen

durchsetzten. Diese Verkalkung der Kolonien erreicht in alten Kulturen so hohe Grade, daß die ganze Kolonie sich in ein kompaktes Kreideplättchen verwandelt, welches wie ein Schüppchen aussieht und mit der Nadel von der Agaroberfläche als solches abgehoben wird. Solche Kolonien in späteren Stadien der Kreideimprägnierung sind auf Fig. 3 und 4 abgebildet. Nach einem Stich in hohe Schicht dieses Agars bemerkt man Kreidebildung längs dem Stiche und Gasentwicklung.

Nimmt man ebensolchen Agar mit Pepton, jedoch ohne ameisensaures Calcium, so erhält man gutes Wachstum, nur natürlich ohne Kreidebildung und ohne Gasentwicklung. In diesem Falle jedoch wird der Agar braun, was im Nährboden mit ameisen-saurem Salz nicht der Fall ist.

Anaërob wächst der *Bacillus* auf der Pepton- und Formiat-haltigen Gallerte ebensowenig wie in der Nährlösung ähnlicher Zusammensetzung (s. oben).

Wir haben soeben gesehen, daß in dem Nährboden, der das Kalksalz der Ameisensäure enthält, unter Einfluß des Wachstums des *Bact. formicum* Kreide zur Ausscheidung gelangt. Verwenden wir anstatt des Kalksalzes ein Alkalisalz der Ameisensäure, so wird offenbar unter den nämlichen Bedingungen der Nährboden sich an löslichen Karbonaten bereichern und folglich mehr und mehr alkalisch werden. Um dieses bestätigen zu können, verfertigten wir einen Nährboden, der Phenolphthalein enthielt, indem wir uns betreffs dieses Zusatzes an die Vorschriften von Zilleczky¹⁾ hielten.

Der Nährboden hatte folgende Zusammensetzung:

Gewöhnliche Bouillon	1000 ccm
Agar	20 g
Ameisensaures Natron	10 g
Phenolphthaleinlösung	200 ccm.

Hier erschienen am nächsten Tage nach der Impfung auf schiefer Oberfläche üppige Kolonien des *Bact. formicum* und unter denselben diffuse Rosaverfärbung des Phenolphthaleins. Nach einem weiteren Tage färbte sich der Agar in seiner ganzen Masse intensiv rosa und im Kondenswasser am Boden des Reagenzglases trat Gärung auf.

Dasselbe Bild wiederholt sich, wenn man die Bouillon durch 0,5 Proz. Fleischextrakt ersetzt.

Wir sahen bereits oben, daß ein Agarnährboden mit 2 Proz. ameisen-saurem Kalk und 0,5 Proz. Pepton, in Leitungswasser gelöst, ein für die anaërobe Zucht des *Bact. formicum* vollkommen untaugliches Medium ist. Aus dieser Beobachtung, sowie der Tatsache, daß der Mikroorganismus in flüssiger Nährlösung mit

1) Die Phenolphthaleinlösung wurde auf folgende Art hergestellt: Zunächst löste man 0,5 g Phenolphthalein in 100 ccm eines Gemenges aus gleichen Teilen Alkohol und Wasser; diese Lösung wurde vor dem Gebrauche 20fach mit Wasser verdünnt und in Mengen von je 1 ccm auf jede 5 ccm Agar zugesetzt. R. Zilleczky, Biochemische und differentialdiagnostische Untersuchungen einiger Bakterien mittels Phenolphthaleinnährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. No. 10. p. 752.)

ameisensaurem Kalk anaërob nicht wächst, könnte man den Schluß ziehen, das *Bact. formicicum* sei zwar ein fakultativer Anaërobe, brauche aber nichtsdestoweniger zur Vergärung der Ameisensäure unbedingt die Anwesenheit von Luft. Es zeigt sich aber, daß die Vergärung der Ameisensäure unter anaëroben Bedingungen hier, wie in manchen analogen Fällen, mit der Qualität der Nahrlosung im Zusammenhange steht. Denn nehmen wir eine 1-proz. Lösung von ameisensaurem Natron in Bouillon, so wird unser Bacillus auf diesem Nährboden sowohl aërob als auch anaërob wachsen und das Formiat vergären. Impft man in paralleler Weise mit dem *Bact. formicicum* 2 Röhrchen, deren eines eine hohe Schicht gewöhnlicher Bouillon, und deren anderes Bouillon mit 1 Proz. Natr. form. enthält, und läßt man dieselben bei 35° C stehen, so tritt in dem letzteren binnen wenigen Stunden stürmische Gärung auf, zu einer Zeit, wenn die Bouillon noch sehr wenig getrübt ist, und erst, wenn diese Gärung abgelaufen ist, beginnt die Lösung sich stärker zu trüben und einen fauligen Geruch zu entwickeln. Diese letzten Erscheinungen samt Hautbildung auf der Oberfläche nimmt man in dem ersteren, formiatlosen Röhrchen deutlicher und früher wahr, doch keine Gärung. Man hat dabei den Eindruck, als ob die Tätigkeit des Mikroben sich zuerst dem Formiat zuwendet, und erst, wenn dasselbe vergärt, die übrigen in Bouillon gelösten Substanzen angreift.

Zur Veranschaulichung der dem *Bact. formicicum* eigenen Gärungsfähigkeit, wollen wir die Resultate eines größeren Gärungsversuches des ameisensauren Kalkes anführen, wobei während der ganzen Dauer der Gärung die Zusammensetzung der Gase systematisch kontrolliert wurde, wenn auch die Bestimmung der absoluten Menge der ausgeschiedenen Gase unterblieb. Da unter den von uns beschriebenen Verhältnissen eine Gärung der ameisensauren Kalkes bei anaëroben Bedingungen überhaupt nicht zustande kommt, so waren wir genötigt, den Gärungskolben nicht voll zu füllen, um somit einen mit Luft erfüllten Raum über der Flüssigkeit zu lassen.

Der Versuch begann am 27. Januar 1902. In einen Erlenmeyerschen Kolben von ca. 750 ccm Inhalt gossen wir 500 ccm einer Lösung von

Calc. formic. 2 Proz.

Pepton 0,2 „

in Leitungswasser. Der zum Versuch verwendete ameisensaure Kalk enthielt 30,67 Proz. Ca (anstatt des theoretischen Wertes 30,77 Proz.), und die zum Versuche genommenen 10 g des Salzes enthielten mithin 3,067 g Ca.

Nach vorausgegangenem Sterilisieren und Impfen mit Rein-kultur des *Bact. formicicum* wurde der Kolben mit einem Kautschukstopfen verschlossen, welcher ein in Quecksilber tauchendes Gasableitungsrohr trug. Der Kautschukstopfen war tief in den Flaschenhals hineingedrückt und mit Quecksilber übergossen. Es waren also zusammen mit der Flüssigkeit ca. 250 ccm Luft im Kolben eingeschlossen.

Die ersten Anzeichen von Gärung waren am 1. Februar be-

merkbar. Am folgenden Tage wurde dieselbe sichtlich stärker, an der Oberfläche der gärenden Flüssigkeit erschienen einige Gasbläschen, sowie ein kaum sichtbares Kreidehäutchen. Von diesem Tage an wurde bis zum Ablauf der Gärung, d. h. während 8 Monaten, die ganze Zeit hindurch die Zusammensetzung der ausgeschiedenen Gase geprüft. Die dabei erhaltenen Daten sind in der untenstehenden Tabelle angeführt.

Nummer des Versuchs	Zeit der Entnahme der Gasportionen	Prozentgehalt an				Ausgerechneter Prozentgehalt der Gärungsgase in den ersten Portionen	
		O ₂	N ₂	CO ₂	H ₂	CO ₂	H ₂
	1902						
1	2. Februar	4,9	87,2	2,3	5,6	29,1	70,9
2	3. "	1,5	81,6	3,5	13,4	20,7	79,3
3	4. "	—	68,5	5,3	26,2	16,8	83,2
4	5. "	—	54,4	6,9	38,7	15,1	84,9
5	6. "	—	43,7	7,7	48,6	13,6	86,4
6	7. "	—	33,9	10,6	55,5	16,0	84,0
7	8. "	—	31,2	12,5	56,3	18,2	81,8
8	12. "	—	15,7	18,8	65,6	22,3	77,7
9	15. "	—	9,3	21,9	68,8	24,1	75,9
10	18. "	—	6,8	23,3	69,9	25,0	75,0
11	2. März	—	1,0	26,9	72,1	27,2	72,8
12	3. "	—	1,1	27,7	71,2	28,0	72,0
13	8. "	—	—	29,8	70,1	—	—
14	14. "	—	—	30,7	69,3	—	—
15	20. "	—	—	31,5	68,5	—	—
16	26. "	—	—	32,0	68,0	—	—
17	31. "	—	—	32,2	67,8	—	—
18	9. April	—	—	32,4	67,6	—	—
19	15. "	—	—	33,6	66,4	—	—
20	22. "	—	—	33,3	66,7	—	—
21	30. "	—	—	33,5	66,5	—	—
22	7. Mai	—	—	33,4	66,6	—	—
23	14. "	—	—	33,8	66,2	—	—
24	22. "	—	—	33,6	66,4	—	—
25	29. "	—	—	33,7	66,3	—	—
26	6. Juni	—	—	34,0	66,0	—	—
27	19. "	—	—	33,8	66,2	—	—
28	5. Juli	—	—	34,0	66,0	—	—
29	20. "	—	—	33,8	66,2	—	—
30	7. August	—	—	33,7	66,3	—	—
31	22. "	—	—	33,7	66,3	—	—
32	12. September	—	—	33,5	66,5	—	—
33	6. Oktober	—	—	33,5	66,5	—	—

Nach dem 6. Oktober hörte die Gasausscheidung auf und wurde die Gärung als abgelaufen angesehen. Um die Zusammensetzung der nach Ablauf der Gärung im Kolben zurückgebliebenen Gase zu bestimmen, wurde ein Teil derselben durch Erwärmen des oberen Teiles des Kolbens in ein Reagenzglas ausgetrieben und der Analyse unterworfen. Es erwies sich, daß das Gas aus 32,3 Proz. Kohlensäure und 67,6 Proz. Wasserstoff bestand.

Die angeführten Gasanalysen liefern ein interessantes Bild der Gärung. Das Erste, was uns in die Augen fällt, ist das schnelle Schwinden des Sauerstoffes aus dem Gasgemenge. Bereits am 4. Tage der Gärung ist durch die Gasanalyse seine Anwesenheit

nicht mehr nachweisbar. Dieses schnelle Schwinden des Sauerstoffes haben wir aller Wahrscheinlichkeit nach der gleichzeitigen Einwirkung zweier Faktoren zuzuschreiben: 1) des mechanischen Verdrängens durch die ausgeschiedenen Gase und 2) einer starken Absorption desselben durch die Mikroben in der Periode ihrer intensivsten Entwicklung. Wie dem auch sei, jedenfalls steht die Tatsache fest, daß der Gärungsprozeß des ameisensauren Kalkes vom 4. Tage an bis zum Ablaufe der Gärung, also ca. 8 Monate lang, unter streng anaëroben Bedingungen vor sich gegangen ist.

In der vierten vertikalen Reihe finden sich die Zahlen, welche die allmähliche Abnahme des Stickstoffgehaltes ausdrücken. Hier ist schon kein so schnelles Schwinden bemerkbar, wie wir es soeben beim Sauerstoff beobachtet haben. Die Abnahme des Stickstoffes schreitet Schritt für Schritt vorwärts, offenbar einzig und allein infolge des Verdrängens desselben durch die Gärungsgase, und erst nach einem Monate befreit sich das Gemenge vollkommen von demselben.

Von der 13. Portion an (den 8. März) besteht das Gas ausschließlich aus Kohlensäure und Wasserstoff, d. h. nur aus den Gärungsprodukten der Ameisensäure. Da es von Interesse war, den Prozentgehalt der Gärungsgase, d. h. der Kohlensäure und des Wasserstoffes, während der ganzen Dauer der Gärung zu verfolgen, so haben wir für die ersten 12 Portionen denselben gesondert berechnet (s. die 7. und die 8. vertikale Reihe). In den ersten 5 Analysen sehen wir eine allmähliche Abnahme des Kohlensäuregehaltes und Zunahme des Wasserstoffgehaltes. Von der 6. bis zur 18. Portion macht sich die entgegengesetzte Erscheinung bemerkbar: die Kohlensäure nimmt zu und der Wasserstoff ab. Am 15. April, also $2\frac{1}{2}$ Monate nach dem Beginn der Gärung, zeigt das Gemisch relativ konstanten Gehalt an den beiden Bestandteilen und erleidet von da an bis zum Schlusse der Gärung, d. h. im Laufe von $5\frac{1}{2}$ Monaten, keine weitere Veränderung: dasselbe besteht annähernd aus einem Volumen Kohlensäure und 2 Volumen Wasserstoff.

Was die anfängliche Abnahme des Kohlensäuregehaltes betrifft, so läßt sich dieselbe leicht durch Lösung dieses Gases in der Flüssigkeit erklären. Hierbei löst sich zugleich der kohlensaure Kalk, welcher bei der Gärung gebildet wurde, indem derselbe sich in doppeltkohlensauren Kalk verwandelt. Es ist ja auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß an der Zusammensetzung der ausgeschiedenen Gase, besonders in den ersten Portionen, teilweise noch Gase sich beteiligen, welche bei der Zersetzung des Peptons entstanden sind. Hat die sekundäre Steigerung des Kohlensäuregehaltes ihre Grenze erreicht, so sind wir berechtigt anzunehmen, daß die Gärungsflüssigkeit sowohl mit Kohlensäure als auch mit Calciumbikarbonat gesättigt ist, und daß infolgedessen von diesem Momente an das Gasgemenge in derselben Zusammensetzung ausgeschieden wird, in welcher es gebildet wird, d. h. daß die Zersetzung des ameisensauren Kalkes unter Entwicklung von 1 Volumen Kohlensäure und 2 Volumen Wasserstoff von staten geht.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Zwei neue fluoreszierende Denitrifikationsbakterien.

[Mitteilung aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium der Universität Königsberg i. Pr.]

Von **Harald R. Christensen** in Kopenhagen.

Mit 2 Tafeln.

Im Jahre 1897 berichtet Sewerin (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 510), daß *Bacillus pyocyaneus* fähig sei, Salpeter unter Entbindung freien Stickstoffs zu zerstören, und in den Jahren 1898 und 1899 teilten Künemann (Landwirtschaftl. Versuchsstat. 1898. p. 106) und Wolf (Hyg.-Rundsch. Bd. IX. 1899. p. 539) mit, daß auch *Bacillus fluorescens liquefaciens* diese Fähigkeit besitze. Endlich beschreiben Ampola und Ulpiani (Gazz. chim. ital. 1898. p. 410. Ref. Chem.-Zeitung Repert. 1898. p. 264) einen denitrifizierenden Fluoreszenten, *Bac. denitrificans* V, aber nach den mitgeteilten kulturellen Eigenschaften, nämlich trichterförmige Verflüssigung von Gelatine und grasgrüne Färbung von Gelatinekulturen, ist es wahrscheinlich, daß diese Bakterie identisch mit *Bac. pyocyaneus* ist (O. Lemmermann, Kritische Studien über Denitrifikation. Habilitationsschrift. Jena 1900. p. 18). Schon früher hatten Weissenberg u. Lehmann und Neumann die Fluoreszentengruppe hinsichtlich ihrer denitrifizierenden Eigenschaften untersucht, jedoch mit negativem Resultate; die oben erwähnten Formen waren also bisher die einzigen bekannten fluoreszierenden Denitrifikationsbakterien.

Bei meinem Studium der Erdbakterien im agrikultur-chemischen Universitätslaboratorium zu Königsberg i. Pr. unter Herrn Prof. Dr. Stutzer bin ich auf zwei neue denitrifizierende Fluoreszenten gestoßen, welche sich in mehrerer Hinsicht sowohl von *Bacillus pyocyaneus* als auch von *Bacillus fluorescens liquefaciens* scharf unterscheiden, besonders durch Nichtverflüssigung der Gelatine.

Als Nährböden benutzte ich zur Züchtung dieser beiden Formen:

1) Nitrat- und Nitritbouillon.

5 g Liebig's Fleischextrakt
5 g Pepton (Merck, Darmstadt)
2 g KNO_3 resp. KNO_2
1000 ccm Leitungswasser.

2) Fleischpeptonbouillon.

5 g Liebig's Fleischextrakt
5 g Pepton
1000 ccm Leitungswasser.

3) Fleischpeptongelatine und Agar.

5 g Liebig's Fleischextrakt
5 g Pepton
120 g Gelatine resp. 10 g Agar
1000 ccm Leitungswasser.

Die Nährböden wurden mit K_2CO_3 schwach alkalisch gemacht. Die Kulturen sind, mit Ausnahme der Gelatinekulturen, welche

in einem dunklen Schranke bei Zimmertemperatur standen, in einem Brutschranke bei 25–27° C gehalten.

Bacillus denitrificans fluorescens a.

Fundort: Gartenerde.

Morphologie.

1) Form und Größe. Die Bakterie ist der von H. Jensen (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 416) beschriebenen Denitrifikationsbakterie, *Bact. centropunctatum*, ähnlich und immer von einer Schleimhülle umgeben, aber nicht mit jener identisch. Von Agar und Gelatine entnommen, ist die Länge nur 0,50–1,25 μ , die Breite 0,50–0,75 μ . Viele sind direkt kokkenförmig. In gefärbten Präparaten sieht man die Bakterien wie dunkle Punkte in den helleren, 2–5 μ großen Schleimhüllen eingelagert. Aus einer 2–3 Tage alten Salpeterbouillon mit Schaumbildung sind die Organismen bedeutend länger und schlanker (1,50–3 $\mu \times$ 0,50–1 μ) und stimmen sie also auch hierin mit *Bact. centropunctatum* überein. Die Stäbchen liegen entweder vereinzelt oder hängen zu zweien aneinander. Ketten sind nie beobachtet worden.

Bei *Bact. centropunctatum* gibt Jensen an, in anaëroben Kulturen sehr große, polgefärbte, ovoide Formen gefunden zu haben. Solche Formen sieht man auch hier stets, namentlich in gewöhnlichen Salpeterbouillonkulturen 12–24 Stunden nach der Impfung. Bevor die Schaumbildung ihren Höhepunkt erreicht, sind diese plumpen, polgefärbten Formen sogar vorherrschend, so daß ich infolgedessen anfangs glaubte, daß meine Kulturen von einer sporenbildenden Art (einer *Clostridium*-Form) verunreinigt wären. Aber trotz wiederholter sorgfältiger Umzüchtung auf Platten und Untersuchung einer Anzahl verschiedener Kolonien in den einzelnen Kulturen bekam ich immer dasselbe Bild, womit der Beweis erbracht war, daß diese Gebilde zum Formkreise dieser Bakterien gehören. — Weitere Untersuchungen machten es wahrscheinlich, daß man es hier mit einem eigentümlichen, konstanten Vorstadium der Teilung der Stäbchen zu tun hatte, und konnte ich in der Tat auf gefärbten Präparaten von Kulturen verschiedenen Alters einzelne Stadien der Teilung, beginnende Einschnürung des helleren mittleren Teiles, Bildung der Scheidewand und zwei fertige zusammenhängende Individuen, beobachten. Die ovoiden Formen liegen in der Regel in Schleimklümpchen zusammengeballt, was die Beobachtung derselben in hohem Grade erschwert. Die ganz großen ovoiden Formen trifft man nur in Salpeterbouillon und während der Schaumbildung. In vergorener Salpeterbouillon und in gewöhnlicher Fleischpeptonbouillon erreichen die ovoiden Formen nur eine Größe von 2–3 μ .

2) Bewegung. In jungen Salpeterbouillonkulturen bemerkt man bei Beobachtung im hängenden Tropfen eine nicht besonders schnelle Zickzackbewegung. Nach der Teilung, während die Individuen noch zusammenhängen, ist die Beweglichkeit gering oder nicht vorhanden.

3) Färbung. Färbt sich sehr schnell und leicht mit Karbol-

fuchsin. Von Agar und Gelatine bekommt man genau dasselbe Bild, wie es Jensen bei *Bact. centropunctatum* beschreibt, indem man auch hier, infolge der die Bakterien umgebenden Schleimmasse, dieselben schaumartig zusammenlaufenden Figuren sieht, und nur hier und da eine einzeln liegende Bakterie wie einen dunkelgefärbten Punkt oder Strich in der helleren Schleimhülle bemerkt.

Streicht man nach Jensens Anweisung (für *Bact. centropunctatum*) ein wenig von einer Kolonie mit Nelkenöl aus und spült nach Fixierung gründlich mit Xylol und Alkohol, so bekommt man auch von Agar und Gelatine schöne Präparate. Bouillonpräparate so zu behandeln, ist unnötig. Die Polfärbung ist sehr allgemein (s. o.). Die Bakterie färbt sich nach Gram nicht.

Kulturelles Verhalten.

1) Nitratbouillon. 24–30 Stunden nach der Impfung beginnt die Schaumbildung, um nach etwa 40 Stunden den Höhepunkt zu erreichen. Die Bouillon ist dann stark getrübt und bleibt diese Trübung bestehen; Bodensatz wird in Uebereinstimmung damit wenig abgelagert. Nach 3–4 Tagen hört die Schaumbildung auf, jedoch ist die Salpeterreaktion selbst 3 Wochen noch sehr deutlich nach der Impfung, woraus hervorgeht, daß diese Bakterie (vielleicht wegen Mangel an stickstoffreichem Nährmaterial) nicht imstande ist, 0,2 Proz. Nitratbouillon vollständig zu vergären. Die Flüssigkeit nimmt einen grüngrauen Ton an.

2) Nitritbouillon. Schon ca. 12 Stunden nach der Impfung fängt die Schaumbildung an, um in 16–20 Stunden das Maximum zu erreichen. Nach 2–3 Tagen ist sie beendet. Das übrige Verhalten entspricht der Nitratbouillon.

3) Fleischpeptonbouillon. 2 Tage nach der Impfung ist die Flüssigkeit stark trübe und an der Oberfläche hat sich eine sehr dicke, runzlige, schleimige Haut — eine mächtige Zooglōa — gebildet, die sich auch etwas an den Wänden des Gläschens emporzieht.

4) Gelatineplatte. Ungefähr 30 Stunden nach der Aussaat zeigen sich die Kolonien als makroskopisch eben sichtbare Pünktchen. Auf 4–5 Tage alten Platten sind die Oberflächenkolonien, welche zirkelrund, stark gewölbt, feucht perlmutterglänzend erscheinen, noch ziemlich klein ($\frac{1}{2}$ –1 mm Durchmesser). Die Tiefenkolonien sind etwas kleiner mit minder regelmäßiger Kreisform. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

5) Gelatinestrich. Nach ca. 30 Stunden zeigt sich auf der Länge des Striches ein schmutzigweißer Belag, welcher im durchfallenden Lichte prachtvoll in allen Farben des Spektrums fluoresziert. In 3–4 Tage alten Kulturen ist der Strich ca. 2 mm breit und jetzt schwach gestreift und in der Mitte feuchtglänzend. Von dem ausgefransten oder ausgezackten Rande breitet sich ein dünner Belag nach den Seiten aus. Nach 5–6 Tagen ist der unmittelbar unter dem Strich liegende Teil der Gelatine schön hellgrün gefärbt und diese Färbung breitet sich mit der Zeit über die ganze Gelatine aus.

Eine solche Färbung ist von Hj. Jensen für *B. centropunctatum* nicht angegeben. Auch stimmen sonstige Kulturverhältnisse mit *B. centropunctatum* nicht überein.

6) Gelatinestich. An der Oberfläche zeigt sich nach 3 bis 4 Tagen ein gelappter, weißlicher, feuchtglänzender Belag, welcher sich sehr langsam nach den Seiten ausbreitet. Das Wachstum nimmt dem Stich entlang beinahe proportional der Entfernung von der Oberfläche ab, so daß hierdurch ein recht charakteristischer Keil entsteht, welcher sich bei Betrachtung durch die Lupe aus einer Menge kleiner, meist einzeln liegender Kolonien zusammengesetzt zeigt; besonders deutlich tritt diese Punktierung in den letzten zwei Dritteln des Stiches hervor.

7) Agarplatte. 3 Tage nach der Impfung erscheinen die Oberflächenkolonien 2–3 mm im Durchmesser, rund, ganzrandig, klar und mit feuchtperlmutterartigem Glanz. Die Tiefenkolonien sind bedeutend kleiner, rund, oval oder spindelförmig. Die der Oberfläche zunächst liegenden Kolonien erreichen dieselbe nach einigen Tagen und wachsen hier einseitig aus, so daß die Form dann nierenförmig wird.

8) Agarstrich. 3–4 Tage nach der Impfung hat sich ein $1\frac{1}{2}$ –2 mm breiter, gewölbter, scharf abgegrenzter, weißlicher, feuchtglänzender Belag gebildet. Der ganze unter der Strichfläche liegende Teil des Agars ist hellgrün gefärbt.

9) Agarstich. Auf der Oberfläche zeigt sich in 3–4 Tagen ein schleimiger, schmutzigweißer Belag. Der Stich wächst wie bei Gelatine keilförmig, jedoch mehr zusammenhängend (nicht punktiert) und minder regelmäßig. Nach 5–6 Tagen ist das oberste Viertel des Agars grün gefärbt.

10) Anaërober Agarkulturstich. Das Wachstum ist sehr langsam. 3–5 Tage nach der Impfung ist jedoch deutliches Wachstum den ganzen Stich entlang bemerkbar.

Bacillus denitrificans fluorescens b.

Fundort: Pferdemit.

Morphologie.

1) Form und Größe. Plumpe, dicke Stäbchen, welche stets von einer Kapsel umgeben sind. Von Nitritbouillon ist die Länge 1–3 μ , die Breite 0,5–1,25 μ . Einzelne Stäbchen erreichen eine Länge von 4–5 μ . Die Größe der Organismen von Agarkulturen ist bedeutend geringer (0,5–1,5 $\mu \times$ 0,5–1 μ), viele sind völlig kuglig. Es wurden nur einzelne oder zu zweien zusammenhängende Individuen beobachtet, niemals Ketten.

2) Bewegung. Sowohl von Bouillon als von Agar zeigen die Bakterien eine lebhafte Zickzack- oder Drehbewegung.

3) Färbung. Die Bakterie wird sehr leicht mit Karbol-fuchsin gefärbt. Polfärbung ist nicht beobachtet, ebenso wenig gelingt Färbung nach Gram.

Kulturelles Verhalten.

1) Nitratbouillon. Der *Bacillus* ist nur in Synergetik mit anderen Formen, die imstande sind,

Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, fähig, Nitratbouillon unter Schaumbildung zu vergären. Uebrigens gedeihen die Bakterien in Nitratbouillon ausgezeichnet. 12—24 Stunden nach der Impfung ist bereits starke Trübung vorhanden, die während der 3-wöchentlichen Beobachtungsdauer bestehen blieb. Der Bodensatz war gering. Auf der Oberfläche bildet sich nach ein paar Tagen ein dünnes, irisierendes Häutchen.

2) Nitritbouillon. 14—16 Stunden nach der Impfung ist die Flüssigkeit stark trübe und es beginnt schwache Schaumbildung, die in 20—24 Stunden den Höhepunkt erreicht. Nach 3—4 Tagen hat die Schaumbildung aufgehört und sämtliches Nitrit ist verschwunden.

3) Fleischpeptonbouillon. Wie Nitratbouillon.

4) Gelatineplatte. In der Hauptsache wie bei *Bac. denitr. fluorescens a*, doch sind die Kolonien flacher. Die Gelatine wird auch hier nicht verflüssigt.

5) Gelatinestrich. 24 Stunden nach der Impfung zeigt sich ein gräulicher bis schwach bräunlicher Belag, welcher wie bei *Bac. denitr. fluorescens a*, ebenfalls im durchfallenden Lichte prachtvoll fluoresziert. Nach 3 Tagen hat der Strich eine Breite von $1\frac{1}{2}$ —2 mm und ist jetzt mehr grau und schleimig. Die Ränder sind schwach gelappt. Die benachbarte Gelatine beginnt sich braun zu färben, welche Farbe nach und nach der ganze Inhalt des Röhrchens annimmt.

6) Gelatinestich. Nach 3—4 Tagen zeigt an der Oberfläche nur die Einstichstelle Wachstum; der Stich selbst ist unregelmäßig keilförmig und zusammenhängend ausgewachsen.

7) Agarplatte. Nach 2—3 Tagen sind die Oberflächenkolonien ziemlich groß ($2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ mm), flach, weißlich und sehr feucht. Einzelne sind sogar direkt flüssig, so daß sie bei vertikaler Stellung der Platte ausfließen. Dieses findet bei manchen Kolonien auch in horizontaler Stellung statt, wodurch graue, trockene, unregelmäßige Häutchen auf der Platte entstehen. Von einem derartigen trockenen Ringe sind auch die übrigen schwach erhöhten Kolonien stets umgeben. Die Tiefenkolonien sind erheblich kleiner, rund oder oval mit oft recht unregelmäßigem Rand.

8) Agarstrich. 24—48 Stunden nach der Impfung sieht man den Strich entlang einen dünnen, graulichen Belag. Von den Rändern desselben hat sich ein sehr dünnes, irisierendes Häutchen über beinahe die ganze schräge Fläche verbreitet. Nach 3 bis 4 Tagen ist der benachbarte Teil des Agars schwach kaffeebraun gefärbt, welche Farbe sich in 10 Tagen dem ganzen Nährboden mitteilt.

9) Agarstich. Nach 4 Tagen findet sich auf der Oberfläche ein ausgebreiteter, grauweißer, fettigglänzender Belag mit gefranstem oder gelapptem Rande. Der Stich erscheint breit, fast bandförmig. Das oberste Fünftel des Agars ist braun gefärbt.

10) Anaërober Agarkulturstich. 3—4 Tage nach der Impfung ist üppiges Wachstum den ganzen Stich entlang.

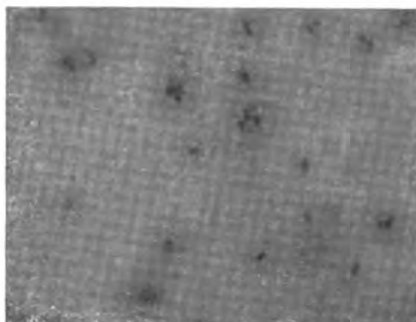


Fig. 1. *Bac. denitrificans fluorescens* a. Von Salpeterbouillon (schlanke Stäbchen). Wegen der die Bakterien umgebenden Schleimhülle ist das Bild etwas unklar geworden.

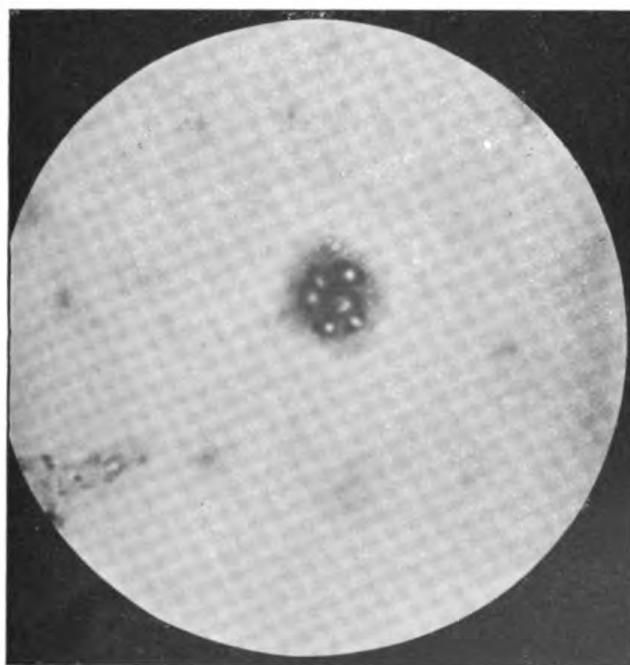


Fig. 2. Derselbe, von Salpeterbouillon (große, ovoide Formen).

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

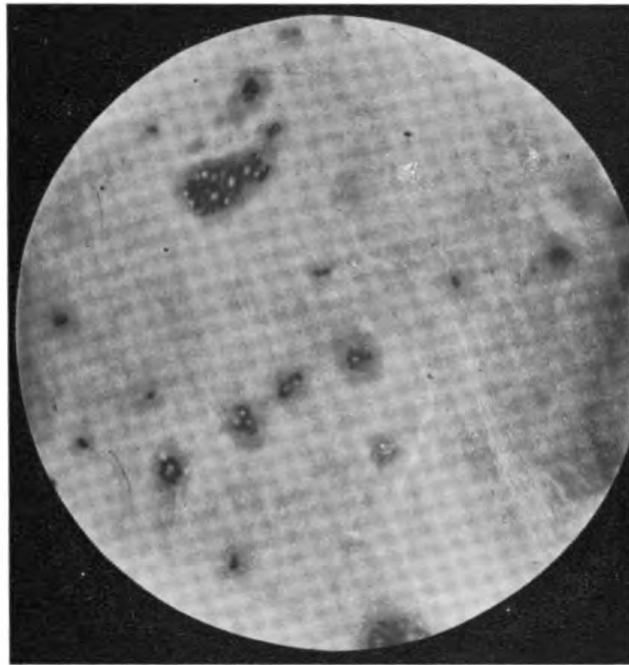


Fig. 3. Derselbe, von Salpeterbouillon (Teilungsstadium der ovoiden Formen).

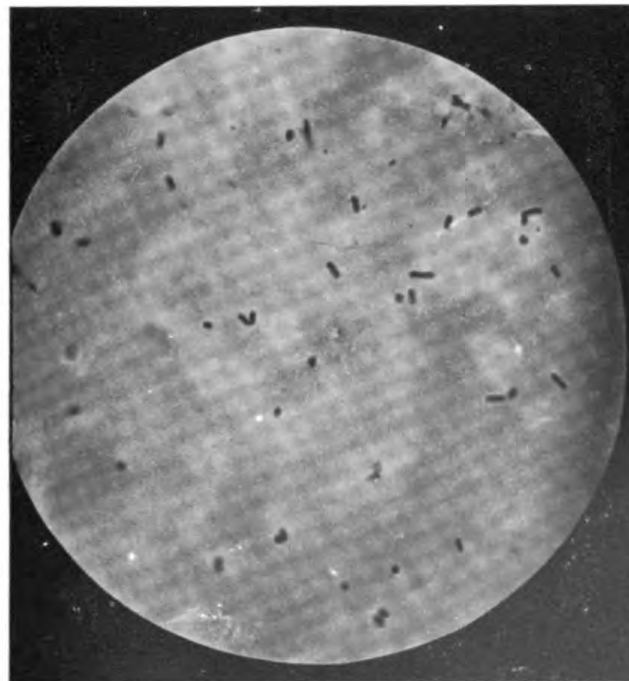


Fig. 4. *Bac. denitrificans fluorescens* b. Von Nitritbouillon.
Ca. 3000fache Vergrößerung.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.

Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien.

Von Dr. med. vet. **Arthur Lux** in Neuhausen (Sachsen).

Bis vor Kurzem hat man allgemein der Annahme gehuldigt, daß die Milch im gesunden, normalen Euter der Kuh und der Ziege bakterienfrei sezerniert werde, daß dagegen eine ascendierende Infektion durch den Zitzenkanal mit banalen Organismen sie häufig schon in der Drüse verunreinigen solle.

Diese Ansicht könnte durch eine große Anzahl von Zitaten belegt werden, von denen aber nur einige genannt werden sollen.

Pasteur nennt die Körpersäfte frei von Mikroorganismen und meint ohne Zweifel damit auch die Milch und Duclaux sagt in seinen „Principes de laiterie“ unter anderem wörtlich: „Die Milch ist frei von Mikroben, wenn sie von einem gesunden Euter sezerniert wird.“ In ähnlicher Weise sprechen sich auch Fleischmann (9) und Stohmann (19) aus; letzterer betont, daß die Bakterien, welche durch die Zitzenöffnung eingedrungen sind, nicht weiter als bis in die Strichkanäle wandern, die eigentliche Drüsensubstanz und die feineren Kanälchen aber freilassen. So erhält man nach Stohmann, da durch den Melkakt die Ausführungsgänge immer mehr ausgespült werden, zuletzt ein bakterienfreies Sekret, eine Behauptung, die übrigens außer diesem Autor noch mehr Vertreter hat.

Die Untersuchungen von Schulz (17), Larsen (15), Barthel (2), Boeckhout und de Vries (3), Backhaus und Appel (1), Ward (21), Conn (5), Conn und Esten (6), v. Freudenreich (11), v. Freudenreich und Thöni (13) haben indessen die Ansicht von der keimfreien Milchdrüse widerlegt, und ich stellte mir zur Aufgabe, diese Verhältnisse nochmals einer genauen Nachprüfung zu unterziehen.

Ein neuer Gesichtspunkt in dieser Angelegenheit war durch die Arbeit von Rieder (Inaug.-Diss. Bern 1902) gegeben. Derselbe fand in der Wand der Cisterne der Milchdrüse wohlausgebildete Drüsenläppchen, welche als rudimentäre Milchdrüsenläppchen schon längst bekannt waren; ihre gute Ausbildung indessen konnte der Vermutung Ausdruck geben, daß sie die Sekretion eines bakteriziden Saftes zur Aufgabe hatten. In diesem Falle wären auch die ersten Portionen der gemolkenen Milch keineswegs bakterienreicher als die übrigen Teile des Sekretes und diesem Punkte wurde in der vorliegenden Arbeit besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Die in der normalen, frisch gemolkenen Kuh- und Ziegenmilch angetroffenen, in Reinkulturen gezüchteten Bakterien wurden auch auf ihre Stellung im botanischen System untersucht, um eine eventuelle Verwandtschaft derselben entweder mit den Düngerbakterien oder mit denjenigen des Verdauungsapparates von Kuh und Ziege feststellen zu können.

Ferner war es wichtig, zu wissen, welchen Einfluß wohl die verschiedenen Fütterungsweisen auf die Bakterienzahl in der Milch besitzen könnten und ob eine tägliche Schwankung in dem Vorkommen dieser Mikroorganismen zu beobachten wäre. Aus diesem Grunde wurden die Versuche, deren Ergebnisse in den folgenden Tabellen zusammengestellt sind, zur Ausführung gebracht.

Als Anhang zu der vorliegenden Arbeit wurden noch die Milchproben zweier Stuten und die sogenannte Hexenmilch eines ca. 9 Wochen alten weiblichen Zickleins untersucht, und es sind die Resultate aus den beigegebenen Tabellen zu ersehen.

Methodik.

Die Probeentnahme der Milch in den 8 in Frage stehenden Untersuchungen geschah teils am Morgen, und zwar bei Versuch II bis IV und VI, teils am Abend bei Versuch I, V, VII und VIII, und wurde in landesüblicher Weise ohne jede Asepsis ausgeführt. Die Milch wurde dabei in nur kleinen Quantitäten, in Strahlen von 1—3 ccm Menge in sterile Reagenzgläser aufgefangen, und zwar die 3 ersten Strahlen zu Beginn des Melkens getrennt (der 1., 2. und 3. Strahl), dann in der Mitte des Gemelkes eine Probe und am Ende desselben eine solche.

Dabei wurden die Röhrchen möglichst wagrecht gehalten und nicht eher die Wattepfropfen gelüftet, bis die melkende Person zu dem Melkgeschäfte fertig war. Es kam somit der Rand eines Gläschens niemals mit der Euterzitze in Berührung. Eine Luftinfektion sowohl als eine solche seitens der Euteroberfläche kam somit, wenn man bedenkt, daß der ganze Vorgang der Milchentnahme kaum einige Sekunden beansprucht, nur als seltene Ausnahme in Betracht.

Die Verarbeitung des Materiales geschah stets sofort nach der Gewinnung und es wurden die Milchproben sowohl während des Transportes nach dem Institute als auch im Laboratorium jedesmal in frischem, kaltem, oft gewechseltem Wasser gehalten.

Die Uebertragung der Milch auf die verschiedenen zur Verwendung gelangenden Nährböden wurde mittels eines kleinen, zufällig die Menge von 0,09 ccm fassenden Platinlöffels rasch ausgeführt. Nachdem das in einem Glasstab fest eingeschmolzene Löffelchen in der Flamme mit diesem gut ausgeglüht war, wurde das die kleine Milchmenge enthaltende Reagenzglas gut umgeschüttelt, um eine möglichst ausgiebige Mischung des Inhaltes herbeizuführen. Der Platinlöffel wurde an der Außenfläche mit sterilisierter Watte abgewischt und der Inhalt hierauf dem Kulturboden beigemischt.

Zugleich mit der Ueberimpfung der Milch auf die verschiedenen Nährböden wurden Milchpräparate in der Weise angefertigt, daß mit der ausgeglühten Platinöse je ein Tropfen des Untersuchungsmateriales auf einen Objektträger gebracht, dort gut ausgestrichen und später fixiert wurde. Die Entfettung geschah durch Xylol, manchmal auch durch Chloroform. Nach gutem Abspülen mit Alkohol und nachher mit destilliertem Wasser schritt man zur

Färbung durch das Nicolle-Thionin (10 ccm einer gesättigten Lösung in 50-proz. Alkohol von Thionin werden mit 100 ccm einer 1-proz. Karbolsäurelösung verdünnt).

Die Mikroorganismen traten gut hervor und konnten so näher bestimmt werden.

Bei den späteren Vergleichen der Keime, welche in den Kulturen auf den Nährböden gewachsen waren, mit den primären Untersuchungsergebnissen konnte festgestellt werden, daß Probe für Probe korrespondierte, d. h. wo z. B. in einem Milchpräparate Kokken und Stäbchen zur Beobachtung gelangt waren, traten diese auch in der entsprechenden Kultur auf.

Angelegt wurden aërobe und anaërobe Kulturen. Mit gutem Erfolge verwendete man zu den letzteren 25 cm lange Röhrchen, die mit ca. 20 ccm Agar beschickt wurden (Burri, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 533).

Die Züchtung geschah sowohl bei 18° C, wie auch bei 38° und 63° C und dienten als Nährböden für die verschiedenen Versuche folgende:

1) Milchgelatine.

Zur Herstellung derselben wurden 1000 g Magermilch auf 40° C erwärmt und durch $\frac{1}{2}$ Eßlöffel Labessenz oder eine entsprechende Menge Labpulver zur Gerinnung gebracht. Nachdem man die Masse noch auf 100° C erhitzte, um eine vollständige Koagulation herbeizuführen, wurde sie durch ein Sehtuch gegossen. Zu dieser Molke setzte man $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz, 1 Proz. Pepton-Witte und 10 Proz. Gelatine.

Aërobisch wuchsen durchschnittlich in den angelegten Kulturen 1401 Kolonien.

2) Fleischwasserpeptongelatine.

Mit 10 Proz. Gelatine nach der bekannten Vorschrift zubereitet.

Auf diesem zuckerfreien Nährsubstrat wuchsen in aëroben Kulturen im Durchschnitt 649 Kolonien.

3) Milchagar.

Zu der Molke wird anstatt Gelatine 1,5 Proz. Agar hinzugefügt nebst den früher erwähnten Zusätzen.

Dieser milchzuckerhaltige Agar wurde sowohl zur aëroben als auch zur anaëroben Züchtung bei 38° C und zum Nachweise der thermophilen Bakterien (63° C) verwendet, und konnten aërob durchschnittlich 1395, anaërob 460 Keime gezählt werden.

4) Somatose-Heydenglycerinagar.

(Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. p. 92.)

Die Herstellung dieses Nährbodens unterscheidet sich von derjenigen des vorigen durch die Ersetzung der Molke durch Wasser. Agar kommt ebenfalls in 1,5 Proz. hinzu. Nachdem die Lösung dieses Agars durch Kochen gelungen ist und noch $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz sowie 30 g Glycerin hinzugefügt sind, wird neutralisiert. Der klaren Masse setzt man nun $\frac{1}{2}$ Proz. Nährstoff-Heyden und

$\frac{1}{2}$ Proz. Somatose hinzu und kocht bei 120° C während einer Viertelstunde.

Dieses Nährmedium fand zur aeroben und anaeroben Züchtung bei 38° C Verwendung und die durchschnittlichen Resultate waren 712 Kolonien aerob und 198 anaerob.

Wie soeben mehrfach erwähnt wurde, wurden aerobe und anaerobe Kulturen angelegt und das Wachstum nicht nur bei 18 und 48° C, sondern auch bei 63° C geprüft. Die gewonnenen Ergebnisse sind noch einmal in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Zahl der aus 1 ccm Milch gewachsenen Keime.

Aerob				Anaerob			
Nährboden	Temperatur			Nährboden	Temperatur		
	18°	38°	63°		18°	38°	63°
Milchgelatine	1401 K	—	—	—	—	—	—
Fleischwasserpepton- gelatine	649 K	—	—	—	—	—	—
Milchagar	—	1395 K	0	Milchagar	—	—	0
Milchagar	—	—	—	Milchagar	—	460 K	—
Heydenagar	—	712 K	—	—	—	—	—
Heydenagar	—	—	—	Heydenagar	—	198 K	—

Ein Blick auf diese Tabelle beweist, daß den Mikroorganismen der normalen Kuhmilch, wenn man den Einfluß des Nährbodens und denjenigen der Temperaturen der Luft in Bezug auf die Art ihres Wachstums in Betracht zieht, die aerobe Züchtung bei 18° auf der zuckerhaltigen Milchgelatine am zusagendsten ist. Ebenso gut, aber weniger bequem ist die Züchtung auf Milchagar bei 38° C.

Alle später mitgeteilten Resultate sind durch Züchtung auf Milchgelatine bei 18° C gewonnen worden.

Die Zählung der Bakterienkeime fand selten am 5., meistens am 7. resp. 8. Tage in den bei 18° gehaltenen aeroben Kulturen statt. Dieselbe wurde dagegen am 4. Tage in den aeroben und anaeroben Kulturen, welche einer Temperatur von 38° C ausgesetzt waren, vorgenommen.

Bakterienarten der normalen Milch.

In den 260 Kuh- und 95 Ziegenmilchproben, welche untersucht wurden, fanden sich vorzugsweise 6 Arten von Bakterien vor, nämlich:

1) Ein weißer, verflüssigender Coccus in 3 Varietäten, die sich nur in der Art der Verflüssigung unterschieden: *Staphylococcus mastitis albus* (Guillebeau).

2) Ein gelber, verflüssigender Coccus: *Staphylococcus mastitis aureus* (Guillebeau).

3) Ein bald gelber, bald brauner, nicht verflüssigender Coccus: *Galactococcus versicolor* (Guillebeau).

4) Ein rotes, verflüssigendes Bakterium: *Bacterium prodigiosum* (Ehrenberg).

5) Ein citronengelbes, verflüssigendes Bakterium: *Bacterium luteum* (Zimm.).

6) Ein weißes, nicht verflüssigendes Bakterium, welches Gas bildet: *Bacterium lactis aërogenes* (Escherich) oder *Bacterium acidi lactici* (Hueppe) oder *Bacterium coli commune* (Escherich).

1) *Staphylococcus mastitis albus* (Guillebeau) (14).

Form: Coccus.

Größe: 0,5—1 μ .

Gruppierung: Einzeln oder in Haufen.

Färbung: Gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben, ebenso nach Gram.

Temperatur: Wächst gut bei 18 und 38° C.

Bouillon: Mäßig getrübt, geringer weißlicher Bodensatz, oft kettenbildend.

Milch wird sauer.

Gelatine: Zuerst erscheinen weiße, runde Kolonien von porzellanartigem, glänzendem Aussehen, die in der Mitte etwas dunkler sind. Hierauf erfolgt eine langsame Verflüssigung mit krümeligem (Varietät A) resp. homogenem Bodensatz (Varietät B). Auffallend spät tritt die Verflüssigung bei der Varietät C ein. Bei mehrmaligem Umzüchten sind diese Varietätenmerkmale bald konstant, bald sehr vergänglich.

Agar, schräg: Glänzende, etwas erhabene Auflagerung.

Kartoffel: Erhabener, glänzender Belag.

Beweglichkeit fehlt.

Dieser *Staphylococcus* fand sich unter den 30 248 Kolonien, welche in den 260 Proben Kuhmilch gezählt wurden, 24 197 mal = 80 Proz., unter den 3623 Kolonien der 95 Proben Ziegenmilch 3195 mal = 88 Proz. vor, d. h. in ca. $\frac{4}{5}$ aller Fälle.

2) *Staphylococcus mastitis aureus* (Guillebeau) (14).

Form: Coccus.

Größe: 0,5—1 μ .

Gruppierung: Einzeln, zu zweien, aber auch in Haufen liegend.

Färbung: Gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram.

Temperatur: Wächst gut bei 18 und 38° C.

Bouillon: Gleichmäßig getrübt mit orangegelbem Bodensatz; oft kettenbildend.

Milch wird sauer und flockig.

Gelatine: Es entstehen zunächst rundliche, gelbliche Kolonien, die sich langsam mit tellerartigen Verflüssigungszonen umgeben; die verflüssigte Gelatine wird getrübt und es treten in ihr orangegelbe Wolken auf.

Agar, schräg: Orangegelber, erhabener, glänzender Ueberzug.

Kartoffel: Glänzende, orangegelbe Auflagerung.

Dieser Coccus kam in derselben Probenanzahl Kuhmilch 97 mal = 0,3 Proz. vor. In der Ziegenmilch wurde er 36 mal = 1 Proz. angetroffen.

3) *Galactococcus versicolor* (Guillebeau) (14).

Form: Coccus.

Größe: 0,5—1,5 μ .

Gruppierung: Einzeln, zu zweien, zu vieren, in Ketten und in Haufen liegend.

Färbung: Gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram.

Temperatur: Wächst bei 18 und 38° C.

Bouillon: Getrübt mit schwach gelblichem, bald bräunlichem Bodensatz.

Gelatine: Das Wachstum geschieht in bald kleineren, bald größeren rundlichen Kolonien, die gelbbraun, bräunlich, ganzrandig, aber auch mit gebuchteten Rändern versehen sind. Verflüssigung bleibt stets aus.

Agar, schräg: Matte, zarte, gelbliche, bald braune Auflagerungen.

Kartoffel: Langsames und beschränktes Wachstum.

Beweglichkeit fehlt.

Der *Galactococcus versicolor* konnte in Kuhmilch 3039 mal = 10 Proz., in Ziegenmilch 219 mal = 6 Proz., gezählt werden.4) *Bacterium prodigiosum* (Ehrenberg).
(Syn.: *Micrococcus prodigiosus* Cohn, *Bacillus prodigiosus* Flügge.)

Form: Rund oder oval.

Größe: 0,5—1 μ .

Gruppierung: Zu zweien liegend, aber auch in Haufen vorkommend.

Färbung: Gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben, nicht nach Gram.

Temperatur: Wächst gut bei 18 und 38° C.

Bouillon: Wenig getrübt mit rötlichem Bodensatz.

Milch: Gerinnt und wird rötlich verfärbt.

Gelatine: Die anfangs rosa aussehenden, bald rot werdenden rundlichen, kleineren und größeren glänzenden Kolonien verflüssigen die Gelatine rasch und lassen in ihr rote Flockenbildung erkennen.

Agar, schräg: Glattrandige, gewellte Auflagerung.

Kartoffel: Erhabenes, farbiges Wachstum.

Beweglichkeit fehlt.

Das soeben beschriebene Bakterium wurde in der Kuhmilch 74 mal = 0,2 Proz., in der Ziegenmilch 3 mal = 0,1 Proz. beobachtet.

5) *Bacterium luteum* (Zimmermann).

Form: Bakterium.

Größe: 1—3,5 μ lang und 1 μ breit.

Gruppierung: Selten einzeln, meistens durcheinanderliegend.

Färbung: Gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram.

Temperatur: Wächst gut bei 18 und 38° C.

Bouillon: Getrübt mit geringem, gelblichem Niederschlag.

Milch: Gerinnt rasch.

Gelatine: Die üppig citronengelb aussehenden rundlichen, flach erhabenen Kolonien sinken langsam und krümelig ein; die verflüssigte Gelatine läßt in der Tiefe des Trichters gelbe Flocken erkennen.

Agar, schräg: Gelbe, saftige Auflagerung.

Kartoffel: Gelber, mattglänzender, üppiger Belag.

Beweglichkeit fehlt.

Dieser als Luftbakterium bekannte Mikroorganismus kam 77 mal = 0,2 Proz. resp. 19 mal = 0,6 Proz. vor.

6) *Bacterium lactis aërogenes* (Escherich), *Bacterium acidilactici* (Hueppe), *Bacterium coli commune* (Escherich).

Form: Stäbchen.

Größe: 0,5—2,5 μ lang und 0,4 μ breit.

Gruppierung: Allein liegend, aber auch zu zweien vorkommend.

Färbung: Gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben; in der Regel nicht nach Gram, doch nehmen auch eine Anzahl Kulturen die Gram-Färbung an.

Temperatur: Wächst gut bei 18 und 38° C.

Bouillon: Getrübt mit wolkegem Niederschlag.

Milch gerinnt bald rascher, bald langsamer.

Gelatine: Die runden, weißlichen, saftigen, nicht gebuchteten und über die Oberfläche ein wenig prominierenden Kolonien verflüssigen die Gelatine niemals. Im Stich ist der Nagelkopf flach und glänzend weiß und ist die Gelatine durch Gasbildung meist auseinander getrieben.

Agar, schräg: Saftiger, grauweißer Belag.

Kartoffel: Weißliche, mattglänzende Auflagerung, die manchmal Bläschenbildung zeigt.

Beweglichkeit fehlt.

Gelangte bei Kuh 2764 mal = 9 Proz., bei Ziege 151 mal = 4 Proz. zur Beobachtung.

Häufigkeitstabelle der 6 verschiedenen Bakterienarten.

	bei Kuh	bei Ziege
1. <i>Staphylococcus mastitis albus</i> (Guillebeau)	80 Proz.	88 Proz.
2. " " <i>aureus</i> "	0,3 "	1 "
3. <i>Galactococcus versicolor</i> (Guillebeau)	10 "	6 "
4. <i>Bacterium prodigiosum</i>	0,2 "	0,1 "
5. " <i>luteum</i>	0,2 "	0,6 "
6. " <i>lact. aërogenes</i> oder <i>Bact. acid. lact.</i> oder <i>Bact. coli commune</i>	9 "	4 "

(Schluß folgt.)

Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserlich russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von S. A. Sewerin.

Der Vorgang der Aromabildung in Sauerrahmbutter, der sogenannten Holsteiner Butter, ist noch bis heute nicht genügend erforscht, weswegen auch die Utilisierung dieses Vorganges für praktische Zwecke der Butterfabrikation hintangehalten wird. Reinkulturen kommen immer mehr und mehr in Gebrauch bei der Praxis der Butterfabrikation, während für den diese Kulturen anfertigenden Bakteriologen die Frage der Auswahl entsprechender Bakterienarten zur Anlegung einer Reinkultur, welche der Butter einen angenehmen, reinen, sauren Geschmack und ein gewisses, guter Butter eigenes, feines Aroma verleihen soll, noch lange nicht entschieden ist. Eine oder zwei Arten guter Erreger von Milchsäuregärung, welche der Butter einen angenehmen, reinen, sauren Geschmack verleihen sollen, zur Züchtung ausfindig zu machen, ist verhältnismäßig nicht schwer, aber welche Bakterienarten man wählen soll, um der Butter ein feines Aroma zu geben, das bleibt noch bis heute wenig bekannt, und, nach unserer Ansicht, vor allen Dingen bereits deswegen, weil der Begriff des Butteraromas an und für sich, als Geschmacks- und Geruchsempfindung, äußerst schwer irgend welchen Definitionen und Vergleichen zugänglich ist. Es ist leicht verständlich, daß der Frage der Aromabildung von den Bakteriologen, welche sich mit der Bakteriologie der Butter beschäftigen, stets ein reges Interesse entgegengebracht wird, nichtsdestoweniger ist einstweilen wenig praktisches Material zur Entscheidung dieser Frage gesammelt worden, und darum ist eine weitere Anhäufung von letzteren wünschenswert, denn anderenfalls kann die Entscheidung der Frage der Aromabildung in Butter auf einen sehr langen Termin hinausgeschoben werden. Unsererseits beabsichtigen wir, in vorliegender Publikation die Beschreibung eines Bakteriums zu geben, welches in Butter einen angenehmen Geruch erzeugt, und auf diese Weise die einstweilen an Zahl geringe Gruppe von uns bekannten Aromaentwicklern durch noch eine neue Art zu vermehren. Dieses Bakterium haben wir aus Sauerrahm isoliert, welcher durch seinen angenehmen Obstgeruch die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt und dadurch eben uns veranlaßt hatte, ihn einer bakteriologischen Analyse zu unterziehen. Das Ergebnis dieser Analyse war die Ausscheidung eines Bakteriums in Reinkultur, welches, unter gewissen Bedingungen, einen angenehmen Geruch erzeugen kann. Seine Kulturmerkmale sind die folgenden:

Aussehen der Kolonien auf Fleischwasserpeptonagar bei 80-facher Vergrößerung) nach 24 Stunden bei 30° C: Tiefenkolonien meistens spindelförmig, nicht selten mehr abgerundet und relativ wenige ganz rund; alle mit feinen, deutlich gekennzeich-

neten, scharfen Konturen; Farbe der Kolonien hellgelb bis zu dunkelbraun, bei geeigneter Beleuchtung ist eine sehr feine Granulierung zu sehen; bei der Mehrzahl der mehr peripherisch gelegenen Kolonien bemerkt man eine dunklere, schmale, konzentrische Zone, mitunter ist die ganze von dieser Zone begrenzte Oberfläche der Kolonie dunkler gefärbt und dann entsteht an der Peripherie ein ziemlich breiter, heller Hof. Auf der Agaroberfläche, rings um junge Kolonien der eben geschilderten Art, schreitet die Bakterienvegetation fort, und dann erscheinen die Oberflächenkolonien rund, von hellgelbbrauner Farbe, mit scharfen, hellen Rändern, der zentrale Teil der Kolonien ist von etwas dunklerer Farbe, die Struktur feingekörnt, und im dunkler gefärbten zentralen Teil läßt sich schwach ein sehr feines, lockiges Fadennetz wahrnehmen. Nach 48 Stunden haben die Kolonien dasselbe Aussehen, bloß sieht man bei den Oberflächenkolonien fast kein Fadennetz; die ganze Kolonie ist homogen, feingekörnt, von gleichmäßiger Farbe; nur näher zur Peripherie wird die Färbung schwächer, die Peripherie selbst ist ganz farblos, im allgemeinen ist die Färbung der Kolonien eine hellere, als in den ersten 24 Stunden. Die Kultur verbreitet einen unangenehmen, teilweise ammoniakalischen Geruch.

Aussehen der Kolonien auf Fleischwasserpeptongelatine bei Zimmerwärme nach 24 Stunden: Kolonien in der Tiefe des Substrates rund, aber viele an irgend einer Seite citronenartig zugespitzt, von hellgelber Farbe, feingekörnter Struktur, mit scharfen, dunklen Rändern. Fast sämtliche Kolonien an der Oberfläche haben eine dunklere, konzentrische Zone, mitunter ist das ganze von dieser Zone eingeschlossene Zentrum der Kolonie dunkler gefärbt, als die Peripherie. Die jungen Oberflächenkolonien haben das eben geschilderte Aussehen, in der Folge wächst von einer solchen Kolonie aus die Kultur weiter, doch stets nur in irgend einer einzigen Richtung. Diese Ausbreitung der Vegetation ist anfänglich eine ziemlich regelmäßig kreisförmige, fast farblos, mit etwas gelblicher Nuance, von kaum merklicher, feingekörnter Struktur, mit scharfen, mitunter etwas gezackten Rändern. Infolge des Weiterwachsens der Kultur nur nach einer Richtung liegt die ursprüngliche junge Kolonie stets irgendwo seitlich ganz an der Peripherie einer derartigen oberflächlichen Kolonie, in den folgenden Stunden wächst diese runde Masse an der Oberfläche zu einer ganz farblosen, flachen Auflagerung von unregelmäßiger Form mit unregelmäßig gebuchteten, hellen Rändern aus, die Oberfläche der Kolonien ist von kaum merklichen Furchen durchzogen. In diesem Vegetationsstadium liegt die ursprüngliche junge Kolonie an irgend einer Stelle einer solchen Auflagerung näher zur Peripherie in Form einer sehr kleinen, schwach gefärbten Auflagerung. Nach 48 Stunden sind die in der Tiefe gelegenen Kolonien merklich ausgewachsen, von runder, einzelne von etwas ovaler Form, ohne citronenartige Zuspitzung, Färbung bedeutend dunkler-gelbbraun, Granulierung schwach zu merken, konzentrischer Ring schwindet, bleibt er, so bloß bei wenigen Kolonien. Im allgemeinen ist die

ganze Oberfläche der Kolonien mehr gleichmäßig gefärbt, wenn auch ganz im Zentrum die Kolonien oft dunkler gefärbt sind; die Ränder sind dunkel, scharf umschrieben, die Oberflächenkolonien sind fast um das Doppelte ausgewachsen, sind rund geworden, ihr zentraler Teil hat eine hellgelbbraune Färbung, aber in der Richtung zur Peripherie wird die Färbung immer blasser, und ganz an der Peripherie ist die Kultur farblos, im zentralen, stärker gefärbten Teil läßt sich eine Struktur — zarte, verschlungene Locken — bemerken, in dem helleren Teil der Kolonien sieht man keine Struktur, die Ränder sind hell, buchtig. Makroskopisch haben die Oberflächenkolonien das Aussehen zarter, ganz flacher, runder, bei durchfallendem Licht perlmutterglänzender Auflagerungen, der zentrale Teil als weniger durchscheinender, perlmutterglänzender Fleck, bei dieser Beleuchtung sieht man die lockige Struktur der ganzen Kolonie. Nach 72 Stunden haben die Oberflächenkolonien dasselbe Aussehen, aber die Tiefenkolonien haben sich etwas verändert, und zwar gibt es nun wenig runde Kolonien, sondern mehr ovale, die Färbung ist hellgelb bis zu dunkelbraun, wobei wiederum fast bei sämtlichen Kolonien der zentrale Teil dunkler ist, dicht an der Peripherie ein hellerer Hof bleibt und die Struktur feingekörnt. Bei den meisten Kolonien sieht man unregelmäßige, abgerundete Ausläufer der Kultur nach den Seiten, wodurch die Seiten der Kolonien wie gequollen aussehen, öfters kommen diese Vorsprünge auch an den Polen vor, an einem oder an beiden, und dann erhalten die Kolonien ein citronenartiges Aussehen. Darauf wächst gleichsam auf der Kolonie eine andere, gleichartige aus, aber da diese sich nicht ganz mit der unten liegenden deckt, so erscheinen die Konturen der ganzen Kolonie als nicht ganz regelmäßige, wenn sie auch, wie zuvor, dunkel, scharf umschrieben sind. Verflüssigung tritt nicht ein.

Agarstrich bei 30°, nach 24 Stunden: Gräulich-weiß, schmal, feuchtglänzend; nach weiteren 24 Stunden ist der Strich kräftig, ziemlich breit und über der Oberfläche des Substrates erhaben, feuchtglänzend; nach ca. 7—8 Tagen bemerkt man am unteren Teil des Striches eine gelbliche Färbung. Unter dem Mikroskop besteht die Kultur hauptsächlich aus zweigliederigen, geraden oder krummen Stäbchen mit sehr lebhafter und mannigfacher Bewegung. Außerdem sieht man sehr oft längere Stäbchen und Fäden; die längeren Formen sind stets verschiedenartig gekrümmt, die langen Fäden sind nicht selten so stark gekrümmt, daß sie einige Schlingen bilden. Agarstrich bei Zimmerwärme hat dasselbe Aussehen wie bei 30° C.

Fleischwasserpeptongelatinestrich bei Zimmerwärme, nach 24 Stunden: Schmal, flach, gräulichweiß, mit trockenem Glanz; nach 48 Stunden bildet sich an den Seiten des Striches ein zarter, feiner, festonierter, bei durchfallendem Lichte perlmutterglänzender Belag. Im weiteren Verlauf bleibt der Charakter des Striches derselbe, nur überzieht im unteren Drittel des Striches der perlmutterartige Belag die ganze Oberfläche des Substrates. Strich auf Fleischwasserpeptongelatine mit Zusatz von 4 Proz. Milchzucker ist nach

24 Stunden genau derselbe, wie auf gewöhnlicher Gelatine, aber in den folgenden Tagen bilden sich hier keine perlmutterartigen Auswüchse, wie auf gewöhnlicher Gelatine, der Strich wird etwas dicker und breiter, erhält eine gelbliche Nuance, die Ränder des Striches sind scharf, aber stellenweise entstehen kleine Vorsprünge und dann sind die Ränder an diesen Stellen flach gebuchtet.

Fleischwasserpeptongelatinestich nach 24 Stunden, bei Zimmerwärme: Schmal, durchscheinend, grauweiß, abwärts sich verlierend, an der Oberfläche, an der Einstichstelle, eine sehr kleine Auflage. Im weiteren Zeitverlauf bleibt der Stich selbst ohne Veränderung, aber die Auflage wird immer größer; anfangs ist letztere rund, mit trockenem Glanz, in der Folge entsendet sie ringsum kleine Ausläufer, welche später in einem gemeinsamen, feinen, perlmutterglänzenden Hof konfluieren. Mitunter konfluieren diese Ausläufer nicht (anscheinend in dem Falle, wenn die Oberfläche der erstarrten Gelatine mit fleckenweise zerstreuten sehr feinen, fettigen Belägen bedeckt ist), sondern überziehen, sich astförmig verzweigend netzartig, die ganze Fläche.

Stich in Fleischwasserpeptongelatine, mit 4 Proz. Milchzucker, nach 48 Stunden, bei Zimmerwärme: Fein, transparent, grauweiß, nagelförmig, an der Einstichstelle runde, opake Auflagerung, mit feineren, festonierten Rändern, nach ca. 5—6 Tagen bedeckt die Auflagerung die ganze Gelatinefläche, der Stich selbst bleibt unverändert.

Strich auf Bierwürze-Agar nach 48 Stunden, bei 30°: Schmal, fadenförmig, hellgelb, feuchtglänzend, unter dem Mikroskop ziemlich plumpe zweigliedrige Stäbchen mit abgerundeten Enden, ähnlich der großen Form des *B. lact. ac.* Man trifft auch Ketten aus 4—6 Gliedern zusammengesetzt; einzelne Stäbchen und Ketten sind stark gequollen und erinnern an langgestreckte Hefezellen, ein geringer Teil der Stäbchen ist in Bewegung. Im weiteren Zeitverlaufe behält der Strich dasselbe Aussehen, wird nur etwas kräftiger und nimmt eine mehr gelbe Färbung an, unter dem Mikroskop alle möglichen Uebergangsformen von den obengenannten zweigliedrigen Stäbchen bis zur langgestreckten Hefeform zeigend; öfters begegnet man Zellen von Quadratform, mit abgerundeten Winkeln u. s. w. Bei Ueberimpfung auf Agar aus Bierwürze entstanden nur Stäbchen allein, doch etwa nach 15 Tagen erschienen auch hier Involutionsformen; bei weiterer Ueberimpfung aus dem zweiten Strich in flüssige Bierwürze entwickeln sich in der Flüssigkeit bloß Stäbchen allein. Bei Zimmerwärme bildet die Strichkultur gar keine Involutionsformen.

Kartoffelstrich bei 30°, nach 48 Stunden: Breit, hellgelb, mattglänzend, ziemlich erhaben, mit der Zeit wird er kräftiger, dicker und beiter, im unteren Teile des Striches die ganze Breite der Kartoffelscheibe einnehmend; unter dem Mikroskop: Ziemlich dicke Stäbchen von der mannigfachsten Länge, größtenteils gebogene.

Impfung in Fleischpeptonbouillon bei 30°, nach 24 Stunden: Der besprochene Mikrob ist anscheinend empfindlich gegen übermäßige Alkaleszenz des Substrates; darum beobachtet man in über-

mäßig alkalischer Bouillon in den ersten 24 Stunden nur schwache Trübung, bei geeigneter Reaktion der Bouillon trübt sich diese bereits nach 24 Stunden stark; mitunter wollte bei übermäßiger Alkaleszenz der Bouillon, trotzdem viele andere Bakterien, welche uns dann zur Verfügung standen, in derselben vortrefflich gediehen, die geschilderte Bakterienart gar nicht wachsen. Wenn die Bouillon eine entsprechende ist, so ist nach 48 Stunden die Trübung noch stärker; man sieht Spuren eines im Entstehen begriffenen Häutchens, und auf dem Boden einen ziemlich beträchtlichen flockigen Niederschlag. Die stärkste Entwicklung geht sichtbar dicht an der Oberfläche vor sich; hier bilden sich fortwährend Häutchchen, aber diese fallen infolge ihrer lockeren Konsistenz beständig zu Boden, den Bodensatz vergrößernd, und schließlich bildet sich sogar bei ruhigem Stand des Reagenzröhrchens kein Oberflächenhäutchen, sondern nur Fragmente eines solchen. Unter dem Mikroskop kurze Stäbchen von $1,5-2 \mu$ Länge und $0,7-0,8 \mu$ Dicke, aber außer kurzen Stäbchen begegnet man Stäbchen von allerhöchsten Länge; öfters in Fadenform, alle mehr oder weniger längliche Formen sind gebogen, die Stäbchen zeigen lebhafte und mannigfachste Beweglichkeit. Nach ca. 10 Tagen wird der Bodensatz zu einer schleimigen, zähen Masse, so daß bei Erschütterung der Bouillon der Bodensatz als fadenziehende, sehr schwer in der Flüssigkeit verteilbare Locke aufwirbelt. Das Wachstum der Bouillonkultur bei Zimmerwärme ist das nämliche, nur quantitativ weniger kräftig als bei Brutwärme, und mikroskopisch sind die Stäbchen mehr gleichartig, weil längliche Formen fast gar nicht vorkommen. In Bouillon mit 4 Proz. Milchzucker ist das Wachstum dasselbe, wie in gewöhnlicher Bouillon. In Bouillon mit 0,3 Proz. KNO_3 findet kein Denitrifikationsprozeß statt; HNO_2 wird nicht gebildet. In anaëroben Röhrchen mit gewöhnlicher Bouillon oder solcher + 0,3 Proz. KNO_3 , aus welchen die Luft ausgepumpt und durch Wasserstoff ersetzt war, kommt die geschilderte Species nicht zur Entwicklung.

Impfung in sterile Milch bei 30°C : Die Milch während einer 10tägigen Beobachtung äußerlich vollkommen unverändert, von schwach saurer Reaktion. Mikroskopisch, im gefärbten Präparate: Sehr kurze Stäbchen, ganz wie die *B. acidilactici*. Gleichmäßig von der blauen Farbe tingiert, selten sieht man längere Stäbchen. Dementgegen zeigt die Milchkultur bei Zimmerwärme außer diesen kurzen noch eine Menge von Stäbchen allerhöchsten Länge, wobei sämtliche dieser längeren Formen gebogen sind, außerdem gibt es da viele sehr lange, geschlängelte, zu ganzen Knäueln versponnene Fäden. Die Färbung derartiger langer Fäden ist oft ungleichmäßig; so sieht man auf einem langen Faden bedeutend intensiver gefärbte Partien, einmal aus Körnchen ein anderes Mal aus Stäbchen bestehend. Diese Partien sind ungleichmäßig über dem Faden verteilt, mitunter aber ganz regelmäßig, in Form einer ganzen Reihe solcher intensiv gefärbter Stäbchen mit blaugefärbten Intervallen, d. h. das Aussehen ist dasselbe, als wenn eine vegetative Form in Teilung begriffen ist. Endosporenbildung wurde auf keinem Substrat beobachtet.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses.

[Mitteilung aus dem hygienischen Institut zu Stockholm und dem
Molkereilaboratorium zu Åtvidaberg.]

Von Gerda Troili-Petersson.

Mit 3 Tafeln.

(Schluß.)

β) Staphylokokken.

a) Gelatine verflüssigend.

Staphylococcus 30.

Fundort: XVI, XVII, XVIII, XIX, XXII, wahrscheinlich
auch IX, XII, VII, VIII, XXIII.

Morphologisches. Die Zellen sind sehr unregelmäßig in
der Größe. Der Durchmesser variiert zwischen 0,8—1,8 μ . Die
Kokken teilen sich unregelmäßig.

Die Kolonien in Peptongelatine sind gut begrenzt und von
einem verflüssigten Hof umgeben.

Stichkulturen. Die Peptongelatine wird sehr energisch
trichterförmig verflüssigt, nach einiger Zeit ist die Gelatine voll-
ständig aufgelöst.

In Zuckerbouillon bildet sich in 1 Tage unter Trübung
der Flüssigkeit ein kleiner Bodensatz. Nach 3 Tagen hat sich die
Flüssigkeit etwas geklärt.

Milch wird zur Koagulation gebracht. Das Koagulum löst
sich später auf. Der Geschmack wird unangenehm bitter. Die
Reaktion wird alkalisch.

Zeigt gewisse Aehnlichkeit mit den von v. Freudenreich
und Thöni beschriebenen weißen Kokken¹⁾, Typus II, Varietät b.

Staphylococcus 31.

Fundort: Käse I, XV, XVI, XXII.

Morphologisches. Die Zellen in Größe und Teilung un-
regelmäßig. Der Durchmesser variiert zwischen 0,8—1,8 μ .

Kolonien. In Peptongelatine bildet der Coccus ziemlich
große, grobkörnige Kolonien, die am 4. Tage noch keine Ver-
flüssigung der Gelatine bewirkt haben. Später fängt die Gelatine
an, sich in der nächsten Umgebung der Kolonie zu verflüssigen.
In Molkengelatine sind die eingeschlossenen Kolonien klein bis
mittelgroß, rund und scharf umrandet. Die Oberflächenkolonien
sind größer. Der Rand ist von beginnender Verflüssigung kraus
geworden.

Die Stichkulturen in Molkengelatine sowie in Peptongela-
tine zeigen starkes, glänzendes Oberflächenwachstum. Die Gelatine
wird in der ersten Zeit nur erweicht; in älteren Kulturen findet

1) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1903.

man eine schwache, gleichmäßige Verflüssigung. Im Stichkanal gedeiht der Coccus ziemlich gut.

In Zuckerbouillon bildet sich bei 20° in 1 Tage eine diffuse Trübung. Nach 2 Tagen ist die Trübung sehr stark und es hat sich ein Bodensatz abgesetzt.

In Milchkultur verhalten sich die verschiedenen Stämme nicht gleich. Die Milch wird in gewissen Fällen in kurzer Zeit unter Ausscheidung von Molken koaguliert und später peptonisiert. Die Reaktion wird dann alkalisch. Der Geschmack wird schlecht und bitter. Im anderen Fall wird die Milch erst nach längerer Zeit bei schwach saurer Reaktion koaguliert.

In den Käsen XII und XV wurden in dem *Staphylococcus* 31 ähnliche Kokken gefunden, die die Milch nicht beeinflussen.

Zeigt gewisse Aehnlichkeit mit *Micrococcus acidilactis* Krüger¹⁾.

Staphylococcus 32.

Fundort: Käse I, II, XIV, XVIII, XIX.

Morphologisches. Die Größe der Zellen ist sehr verschieden. Der Durchmesser variiert zwischen 0,7 und 1,6 μ .

Die Kolonien in Molkengelatine sind rund und scharf umrandet. Die Peptongelatine wird in der Nähe der Kolonien wenig verflüssigt.

Das Aussehen der Stichkulturen wechselt bei verschiedenen Varietäten. Alle Stämme bilden sowohl in Molken- wie in Peptongelatine einen starken Belag an der Oberfläche; die Farbe und das Verflüssigungsvermögen sind aber variierend. Die Farbe wechselt zwischen citronengelb und orangegelb. Die Gelatine wird schwach und langsam gleichmäßig verflüssigt oder nur erweicht, so daß das Oberflächenwachstum in die Gelatine hineinsinkt. Im Stichkanal ist das Wachstum ziemlich gut.

In Zuckerbouillon entsteht bei 20° in 2 Tagen eine wolkeige Trübung.

Milch wird unter Ausscheidung von Molken koaguliert. Die Reaktion bleibt amphoter. Eine Varietät bringt die Milch nicht zur Koagulation.

Diese Art ist möglicherweise mit derjenigen identisch, die Conn in dieser Zeitschrift, Bd. V. p. 665, beschrieben hat, zeigt auch große Uebereinstimmung mit den von v. Freudenreich und Thöni beschriebenen gelben Kokken²⁾, Typus I.

b) Gelatine, nicht verflüssigend.

Staphylococcus 33.

Fundort: Käse XVIII, XIX.

Morphologisches. Der Durchmesser der Zellen variiert zwischen 0,7 und 1,3 μ .

Kolonien. In Molkengelatine sind die eingeschlossenen Kolonien von mittlerer Größe, rund und scharf umrandet. Die Oberflächenkolonien sind von derselben Form, aber etwas größer.

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. p. 19.

2) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1903.

Die Stickskultur in Molkengelatine zeigt gleichmäßiges Wachstum im Stichkanal. An der Oberfläche bildet sich ein schwacher Belag. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In Zuckerbouillon entsteht bei 20° in 2 Tagen schwache Trübung der Flüssigkeit und ein Sediment wird abgelagert. Die Trübung und der Bodensatz wird allmählich stärker.

Milch wird in kurzer Zeit bei saurer Reaktion zur Koagulation gebracht.

D. Hefen wurden in allen Käsen gefunden, zu deren Untersuchung Nährflüssigkeiten angewandt wurden. In den direkten Plattenkulturen kamen dann und wann Hefekolonien vor, waren aber nie häufig¹⁾. In einem 14 Tage alten Käse, No. XV, fand ich vereinzelte Hefekolonien in Plattenkulturen aus den fünf verschiedenen Nährböden, die zur Herstellung von Platten mit nicht erwärmtem Impfmateriel dienten. Die direkte mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die Hefezellen in diesem Käse nicht selten waren; in älteren Käsen trifft man dagegen die Hefen nur in vereinzelten Präparaten.

Saccharomyces 1.

Unter den isolierten Hefen fand sich nur eine Art, die in Gypsblockkultur bei 25° oder bei Zimmertemperatur Sporen bildete. Diese Art, die in 2 Tage alter Käsemasse gefunden wurde, erzeugt in Würze Untergärung, vergärt Dextrose, nicht aber Laktose. Die Zellen sind von ovaler oder pastorianer Form, sie messen 2,5–5 μ in der Breite, 5–6,5 μ in der Länge.

Unter den übrigen isolierten Hefen habe ich 3 Arten unterschieden.

Torula 2.

Fundort: Käse XV, XVI, XXI, XXII, XXIII.

Die Zellen sind in der Regel rund; der Durchmesser ist gewöhnlich 2,5–4 μ , selten 5 μ .

In Würze sowie in mit Pepton versetztem Dextrosehefewasser bildet sich ein reichlicher Bodensatz von Hefe. Es ist aber keine Spur von Schaumbildung zu sehen. Im Dextrosehefewasser hat sich jedoch Alkohol gebildet; die Jodoformreaktion (im Destillat) gibt nämlich positives Resultat.

In Fleischextraktepeptonbouillon mit ca. 6 Proz. Laktose gedeiht die Hefe gut. Keine Schaumbildung. Jodoformreaktion negativ.

Milch wird nicht makroskopisch verändert.

Torula 3, in Käse XV und XVI gefunden, unterscheidet sich von dem vorigen dadurch, daß diese Art die Molkengelatine in nicht zu langer Zeit verflüssigt. Es ist ja bekannt, daß alte Hefekulturen oft die Gelatine verflüssigen. Da diese Art aber die Gelatine ziemlich stark in einer Zeit verflüssigt hatte, in welcher

1) Mazé (Ann. de l'Institut Pasteur T. XVII. p. 11) hat bei seinen Untersuchungen verschiedener Käse auf (Laktose vergärende) Hefen im Emmenthalkäse keine Hefen gefunden.

die *Torula* 2 nie die geringste Verflüssigung bewirkt hatte, habe ich die beiden Arten getrennt.

Torula 4.

Fundort. Käse XVIII.

Die Zellen sind in der Regel oval, sie messen ca. $3-4\ \mu$ in der Breite und $4\text{ à }5\ \mu$ in der Länge.

Torula 4 erzeugt keine durch Schaumbildung wahrnehmbare Gärung in Würze. In Peptondextrosehefewasser entsteht starke Gasentwicklung mit Schaumbildung. In Peptonfleischextraktbouillon mit Laktose (eine Laktoselösung und die Bouillon wurden jede für sich sterilisiert und dann gemischt) bildet sich ohne wahrnehmbare Gasbildung Alkohol, der durch die Jodoformreaktion nachweisbar ist.

Milch wird nicht makroskopisch verändert.

E. Schimmelpilze.

Oldium lactis ist einmal angetroffen. Andere Schimmelpilze sind in der Käsemasse nicht mit Sicherheit nachgewiesen.

Quantitäten und mikroskopische Untersuchungen.

Die Resultate der quantitativen Untersuchungen werden in folgenden Tabellen zusammengeführt. Die Zählungen der Molken-gelatineplatten werden für die Ausrechnung der Bakterienzahl pr. gr. zu Grunde gelegt. Die Zahlen der peptonisierenden Bakterien (Kurzstäbchen, Kokken und nicht sporenbildende Stäbchen) sind in der Tabelle aufgenommen. Bei den Käsen XV—XXIII sind diese Zahlen auch nach den Zählungen der Peptongelatineplatten angeführt. Zählungen der verschiedenen Arten auszuführen, ist unmöglich, da die Kolonien der meisten Arten ziemlich gleich aussehen. Auch die mikroskopischen Präparate geben nicht einigermaßen Sicherheit; die Arten sind einander oft morphologisch ähnlich, und dieselben Arten können in verschiedenen Entwicklungsformen ungleich aussehen. Es ist außerdem beinahe unmöglich, so viele Kolonien im Strichpräparate zu untersuchen, daß man eine gute Statistik erhalten könnte. Ich habe jedoch von einer großen Menge Kolonien aus den verschiedenen Platten mikroskopische Präparate angefertigt und untersucht, doch konnten sie nicht als Material einer Statistik dienen.

Tabelle 2.

Bezeichnung, Alter und Charakter des Käses	Bakt. pr. gr. Äußere Schicht	Bakt. pr. gr. Innere Schicht	Pept. Bakt. pr. gr. Äuß. Schicht	Pept. Bakt. pr. gr. Innere Schicht
a 3 Wochen, normal	907 000 000	620 000 000	0	0
b 6 Wochen, normal	600 000 000	—	600 000	—
c $2\frac{3}{4}$ Monate, normal	432 000 000	700 000 000	1 200 000	500 000
d 8 Monate, normal	—	568 000 000	—	—
e 10 Tage, normal	545 000 000	720 000 000	5 000 000	8 000 000
f $3\frac{1}{4}$ Monate, gebläht	360 000 000	216 000 000	0	0

Tabelle 3.

Bezeichnung, Alter und Charakter des Käses	Bakt. pr. gr. (Molkengel.)	Pept. Bakt. pr. gr. (Peptongel.)	Pept. Bakt. pr. gr. Molkengel. od. Milchg.
XV 14 Tage, normal	300 000 000	14 000 000	7 000 000
XVI 2 Monate, normal	220 000 000	11 000 000	0
XVII 2 Tage	700 000 000	33 000 000	18 000 000
XVIII 1 Monat, normal	409 000 000	500 000	0
XIX 4 Monate, normal	113 000 000	8 000 000	2 000 000
XX 3 1/2 Monate gebläht	180 000 000	0	0
XXII 1 Monat, normal	421 000 000	400 000	1 300 000
XXIII 2 Monate, normal	490 000 000	wenige	0

Die Bakterienzahlen pr. Gramm sind in Tab. 3 durchschnittlich niedriger als die in Tab. 2. Möglicherweise hat hier die Methode der Verreibung einen Einfluß ausgeübt. Die Proben der Käse a—g sind unter Anwendung von Sand, die Proben der Käse XV—XXIII dagegen nur mit einem Glasstabe verrieben. Zwischen der äußeren, nahe an der Rinde belegenen Schicht und der inneren Käsemasse macht sich in Bezug auf Bakterienzahl kein Unterschied geltend. Ebensowenig ist eine Veränderung der Anzahl der Bakterien bei zunehmendem Alter der Käse sicher zu konstatieren. Einige Zahlen deuten doch auf eine Abnahme der Bakterienzahl bei älteren Käsen hin. Der 2 Tage alte Käse XVII zeigt eine für diese Serie hohe Zahl; es ist dabei auch zu bemerken, daß die Anzahl der in Peptongelatine sich entwickelnden Bakterien noch höher war, nämlich 1 500 000 000 pr. gr.

Um eine Regel der Variation der Anzahl peptonisierender Bakterien festzustellen, ist das Material nicht genügend. Aus der Tabelle geht doch hervor, daß die sehr jungen Käse XVII, XV und f, resp. 2, 14 und 10 Tage alt, ungewöhnlich viel peptonisierende Bakterien enthielten. Die Zahlen der Molkengelatine- und Peptongelatineplatten müssen jede für sich verglichen werden, da die peptonisierenden Bakterien in den Peptongelatineplatten sich leichter geltend machen. Eine Vergleichung mit den Emmen-thalerkäsen hat hier Interesse. Auch in diesen Käsen sind die verflüssigenden Kokken und Käsestäbchen in den ersten Tagen in der größten Anzahl vorhanden (v. Freudenreich, Verf.) Nach kleinen Versuchskäsen zu urteilen, sind aber die verflüssigenden Arten hier in großem Uebergewicht vorhanden, während sie in schwedischen Käsen nur einen geringen Teil der ganzen Bakterienmasse ausmachen.

Bei direkter mikroskopischer Untersuchung sieht man die großen unregelmäßigen Kokken in den sehr jungen Käsen häufiger als in den älteren, was mit den oben erwähnten Verhältnissen im Einklang steht.

In Bezug auf gasbildende Bakterien ist zu bemerken, daß die Milch sowohl in hoher wie in niedriger Schicht bei direkter Impfung von gutem, sowie von geblähtem oder zu dicht gelochtem Käse in den meisten Fällen unter Gasbildung zu Koagulation gebracht wurde.

Die aus dieser Milch hergestellten anaëroben Platten gaben nur fakultativ anaërobe Arten, unter denen sich gasbildende Arten fanden. Aus den direkt besäten anaëroben Platten konnte auch nie ein obligater Anaërob isoliert werden ¹⁾.

Ich habe bei der mikroskopischen Untersuchung nur in einem Falle Formen angetroffen, die sich direkt als von den isolierten Arten verschieden erwiesen. In den Käsen XVIII und XIX habe ich nämlich runde Zellen angetroffen, deren Größe auf etwas mehr als die der *Saccharomyces*-Zellen geschätzt wurde. Die Zellen kamen häufig in Haufen, oft zu dreien vor. Der Zellinhalt schien bei Untersuchung in ungefärbten Präparaten aus runden Körnchen zu bestehen. Bei Färbung mit Methylenblau fand eine Kontraktion des Zellinhaltes unter Annahme gelblicher Farbe statt.

Um eine Uebersicht über die Lage der Bakterien zu gewinnen, habe ich Schnittpräparate angefertigt. Es hat sich gezeigt, daß die Bakterien im Käse in Kolonien liegen (Phot. 8—15). Zuweilen trifft man auch Gruppen von wenigen Bakterien an. Es ist jedoch nicht möglich, zu beurteilen, ob nicht auch diese zu größeren Kolonien gehören, die aber zum größten Teil in einem anderen Schnitt liegen. Die Form der Kolonien ist sehr verschieden. Einen Zusammenhang zwischen der Form der Kolonie und der Bakterienart habe ich nicht beobachten können. Dagegen scheint die Form der Kolonien in der Nähe der Löcher ziemlich bestimmt zu sein. Die Kolonien breiten sich nämlich parallel mit dem Rande des Loches aus und werden lang und schmal. Oft hat man den Eindruck, als ob die Kolonie in einem Risse (Phot. 8) in der Käsemasse liegt. Häufig sieht man am Rande des Loches Bakterienvegetationen, die in die Länge sehr ausgedehnt sind. Diese Vegetationen scheinen nicht von einer bestimmten Bakterienart gebildet zu sein; sie können sowohl aus längeren Stäbchen als auch aus Kurzstäbchen bestehen.

Bei Färbung mit Hämotoxylin tritt eine Differenzierung ²⁾ der verschiedenen Eiweißstoffe in der Käsemasse ein. Gewisse Teile der Präparate werden hellgrau gefärbt und unterscheiden sich dadurch stark von der umgebenden blauen Masse. In den hellgrauen Partien oder in deren unmittelbaren Nähe sieht man oft viele Bakterienkolonien, die jedoch auch in den übrigen Teilen vorkommen. Diese sind möglicherweise von jenen verschieden. In den hellgrauen Partien, die in den Phot. 13 und 14 deutlich her-

1) Nach der Abgabe meines Manuskripts ist eine Arbeit von Rodella über das Vorkommen der anaëroben Buttersäurebacillen in Hartkäsen erschienen (diese Zeitschr. Bd. X. p. 499, 753). Rodella hat bei Impfung von 30 Proben von Parmesan- und Emmentalerkäse in heißer Milch nach der Botkinschen Methode in allen Flaschen stürmische Buttersäuregärung konstatiert. Ich habe 5 Muster von schwedischem Güterkäse nach derselben Methode untersucht, doch wurden einige Proben nach der Impfung noch einige Minuten bei 80° gehalten. Von den 15 Milchflaschen, die alle sehr reichlich geimpft waren, zeigte nur eine Buttersäuregärung. Die Milch in 3 Flaschen war noch nach einigen Tagen unverändert, 2 Flaschen wurden erst nach Abkühlung der Milch geimpft, von diesen zeigte eine Buttersäuregärung.

2) Dieses Phänomen ist zuerst vom Herrn Prof. E. Hohngrén beobachtet worden, der die Güte gehabt hat, mir bei der Herstellung dieser Präparate behilflich zu sein und dem ich hier meinen besten Dank ausspreche.

vortreten, erscheinen eigentümliche Bildungen, die ich später näher studieren zu können hoffe. Man sieht bei starker Vergrößerung kleine Löcher, deren Rand und nächste Umgebung stark gefärbt sind; in diesem Loch sieht man eine Anzahl Lamellen, die in das Loch von der Peripherie eindringen. In gewissen Schnitten machen diese Lamellen den Eindruck von fransenähnlichen Ausstrahlungen, die sich vom Rande gegen die Mitte erstrecken. Aus in verschiedenen Plänen und Richtungen gelegten Schnitten geht jedoch deutlich hervor, daß es Lamellen sind. Diese Bildungen liegen oft in der Nähe von Bakteriengruppen, was auf einen ursächlichen Zusammenhang deutet.

Bedeutung der Tyrothrixbacillen und die Lochbildung.

Der Käse XVII hat eine Gelegenheit zur Prüfung der Theorie von Winkler gegeben, laut welcher die Tyrothrix-Bacillen in den ersten Stunden nach der Herstellung des Käses sich stark vermehren sollten, und zwar besonders in den äußeren Schichten. Wenn dies der Fall wäre, müßten sie sich noch in diesem 2 Tage alten Käse vorfinden. Die Probe wurde so weit von der Rinde entnommen, daß die Anwesenheit zufälliger Rindenkeime nicht zu befürchten war. In den Plattenkulturen aus schwach alkalischer Peptongelatine, die den Tyrothrix-Bacillen einen guten Nährboden darboten, waren mehrere verflüssigende Kolonien zu sehen. Schon das äußere Aussehen dieser Kolonien deutete auf Kokken oder Kurzstäbchen hin; bei mikroskopischer Untersuchung zeigte es sich, daß sie aus Kokken gebildet waren. Auch in den Agarplatten waren keine Tyrothrix-Bacillen zu finden, obgleich die Impfung annähernd 0,05 g Käsemasse entsprechend, und der größte Teil der übrigen Bakterien durch Erwärmen abgetötet war. In den Nährflüssigkeiten hatten sich auch nicht Tyrothrix-Arten entwickelt.

Bei den Plattenuntersuchungen der guten Käse ist ein sporenbildendes Stäbchen nur einmal beobachtet worden. In dem Käse XII (10 Monate alt) erwies sich nämlich, daß eine verflüssigende Kolonie in der Peptongelatineplatte der zweiten Verdünnung aus solchen Stäbchen gebildet war. Die entsprechende Platte der ersten Verdünnung enthielt aber keine sporenbildende Bacillen, was auf eine Verunreinigung deutet. In einem nicht gelungenen Käse XI = XIV sind bei der ersten Untersuchung (XI) in einer Peptongelatineplatte wenige dicke, verflüssigende Stäbchen gefunden worden; bei der zweiten Untersuchung (XIV) fanden sich in der Zuckeragarplatte sporenbildende Stäbchen. Bei sehr reichlicher Impfung von Käse in heißer Milch, die nachher einige Minuten bei 80° gehalten wurde, trat jedoch in einigen Fällen eine von Tyrothrix-Bacillen verursachte Koagulation ein.

Im schwedischen Güterkäse tritt die Lochbildung erst spät ein. Noch nach 14 Tagen, Käse XV, zeigten sich noch keine „Augen“. Bei dem oben erwähnten 2 Tage alten Käse XVII war auch keine Lochbildung zu sehen. Diese vollzieht sich jedoch wahrscheinlich nicht immer in derselben Zeit. Die Behandlung der Käse, die in den verschiedenen Molkereien in einem gewissen Grad

wechselt, übt natürlich auch auf die Lochbildung einen Einfluß aus. Von den 1 Monat alten Käsen XVI, XVIII und XXII sind die Augen bei zwei Käsen noch ziemlich klein, während sie bei einem schon gut ausgebildet erscheinen.

Die Lochbildung dieser Käsesorte ist also von derselben Art, wie die des Emmentaler Käses; sie ist dagegen von der Lochung der nicht stark nachgewärmten Käse, die sich in den ersten Tagen nach der Herstellung vollzieht, sehr verschieden.

Die Konsistenz und das Aussehen der Käsemasse ist bei den jungen wie bei den reifen Käsen von außen nach innen gleichmäßig.

Zusammenfassung einiger Resultate.

- 1) Obligate Anaëroben wurden nur ausnahmsweise angetroffen.
- 2) Tyrothrix-Bacillen sind in guten schwedischen Güterkäsen in sehr geringer Zahl vorhanden.
- 3) Schimmelpilze und Oidium lactis kommen im Innern der Käse kaum vor und sind also für die Reifung ohne Bedeutung.
- 4) Von den gefundenen Bakterienarten sind folgende die häufigsten: Bacterium 15, 16, 17, B. 18, Brachybacterium 19, B. lactis acidi 22, 23, 24, 25, 26, 27, Streptococcus 29, Staphylococcus 30, 31, 32. Einige dieser Arten kommen wahrscheinlich in allen Käsen häufig vor.
- 5) Milchsäure bildende Bakterien sind in allen morphologischen Gruppen vertreten.
- 6) Peptonisierende Bakterien waren auch in verschiedenen Gruppen vorhanden.
- 7) Labproduzierende Arten, die die Milch ohne Säuerung zur Koagulation bringen, wurden unter den Staphylokokken gefunden.
- 8) Torula-Arten kommen in allen jungen Käsen in geringer Menge vor. In älteren Käsen sind sie noch seltener.
- 9) Gasbildende Bakterien kommen in geringer Anzahl vor.
- 10) Alter und junger Käse sind ziemlich verschieden. In jungen Käsen kommen Hefen und peptonisierende Kokken und Kurzstäbchen häufiger vor.
- 11) In Bezug auf Bakterienmengen und mikroskopischen Befund wird auf Seite 210 hingewiesen.
- 12) Die Bakterien liegen im Käse in Kolonien von recht verschiedener Form und Größe. (Vgl. die Photographieen.)
- 13) Bacterium dimorphum 5 und Bacterium curvatum 18 sind morphologisch beachtenswert, wie Beschreibungen und Photographieen zeigen.

Tafelerklärung.

Die Vergrößerung ist bei Fig. 1—11 und Fig. 13 1000-fach, bei Fig. 12, 14 und 15 450-fach.

- Fig. 1. Bact. dimorphum, Agarkultur nach 1 Tage.
- Fig. 2. Bact. dimorphum, ältere Agarkultur.
- Fig. 3. Bact. 15.
- Fig. 4. Bact. 16.
- Fig. 5. Bact. curvatum, bei höherer Temperatur gezüchtet.
- Fig. 6. Bact. curvatum, bei Zimmertemperatur gezüchtet.
- Fig. 7. Bact. apiculatum.

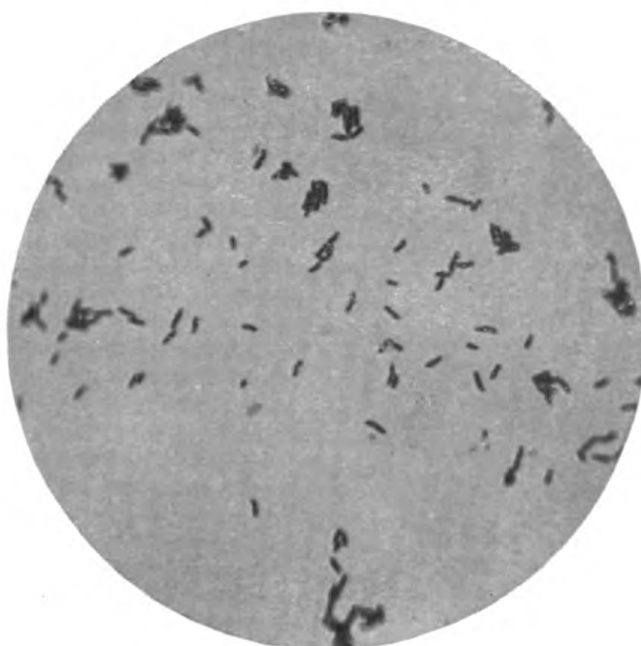


Fig. 1.

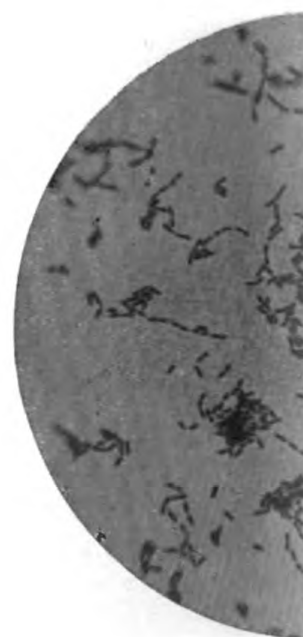
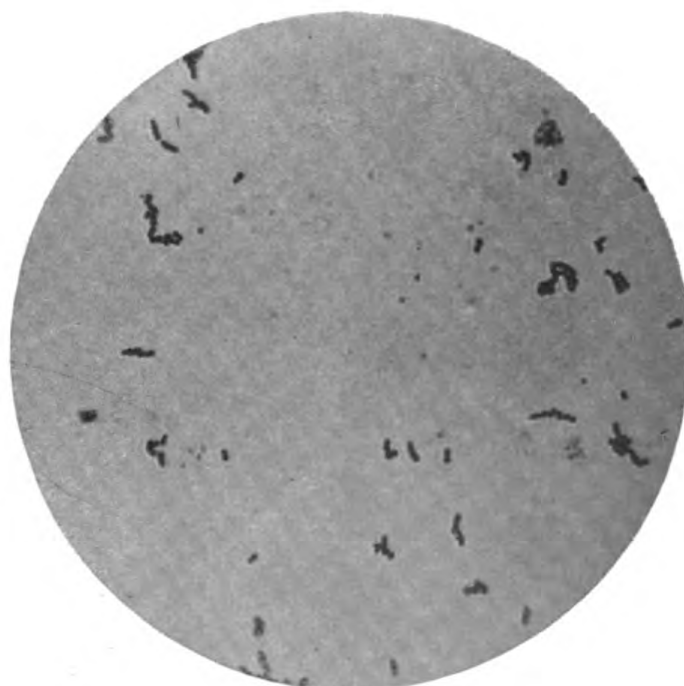


Fig. 2.

Verlag von Gustav



Fig. 3.

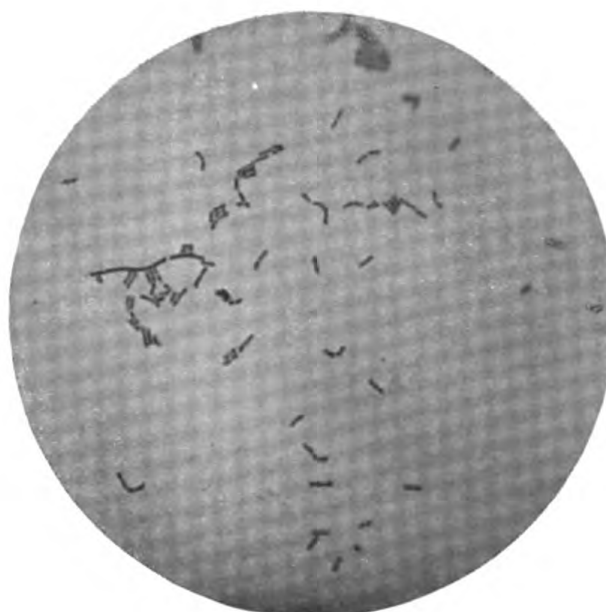
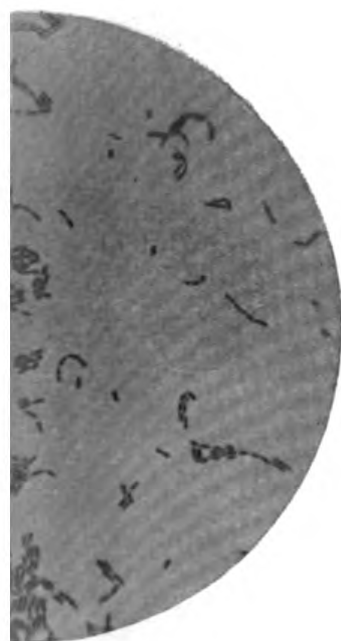


Fig. 5.



g. 4.

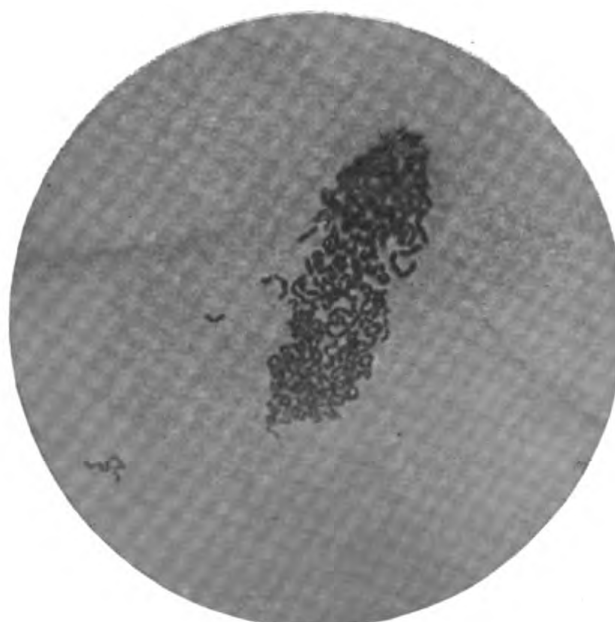


Fig. 6.

Fischer in Jena.

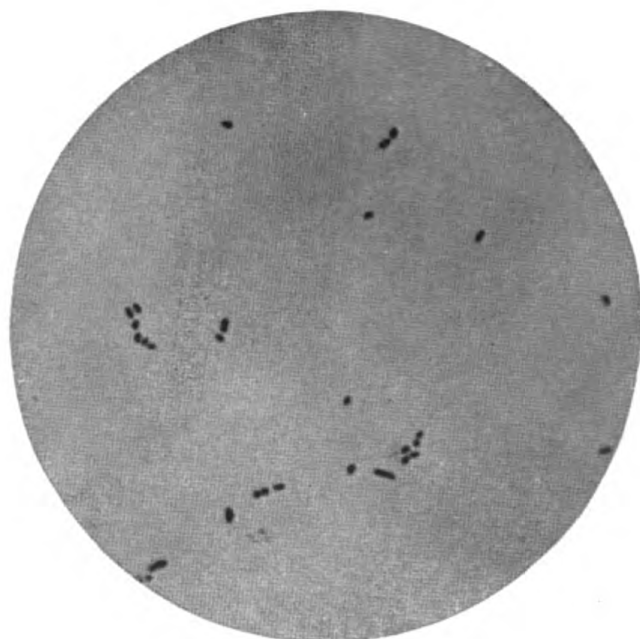
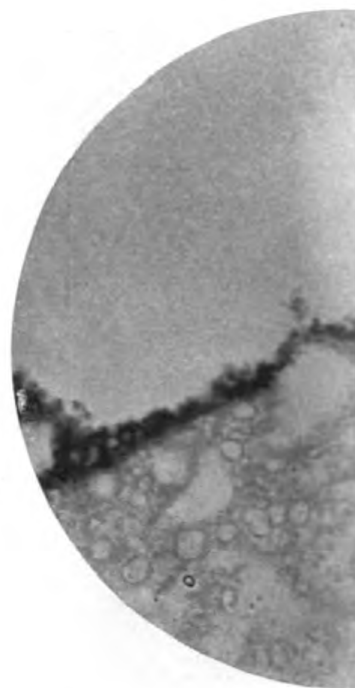


Fig. 7.



Fig

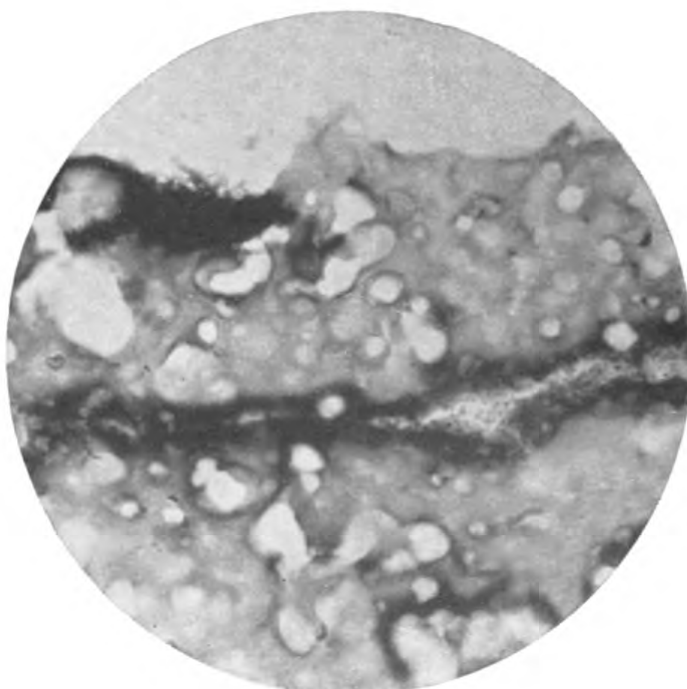
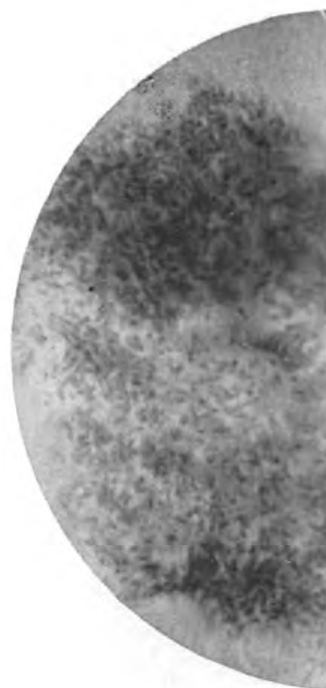


Fig. 8.



Fi

Verlag von Gustav I

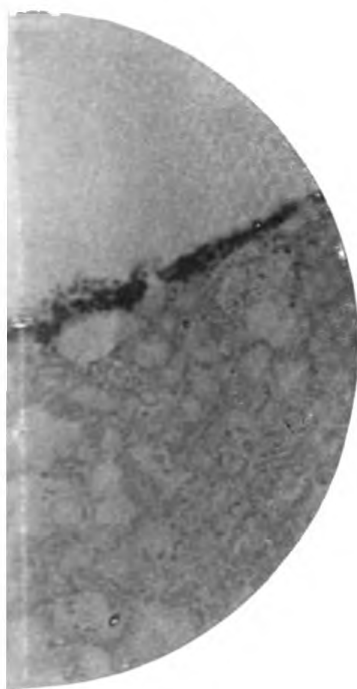


Fig. 9.

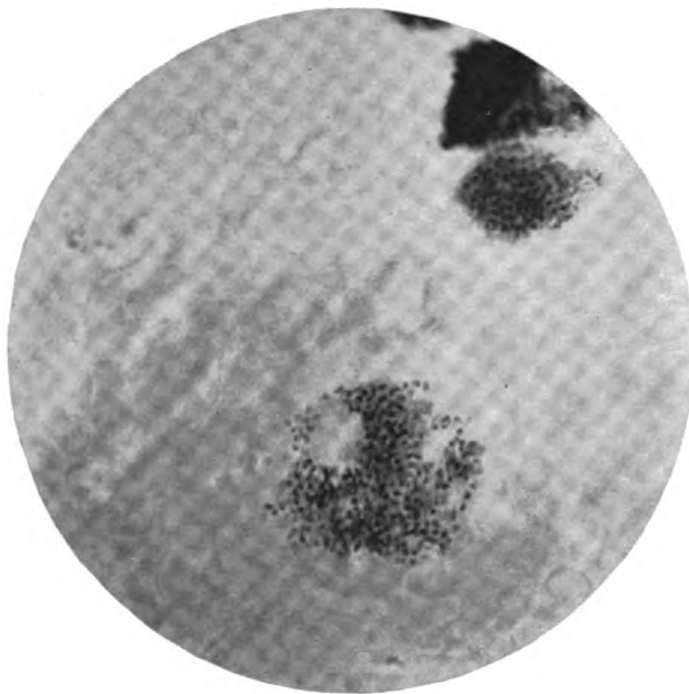


Fig. 11.

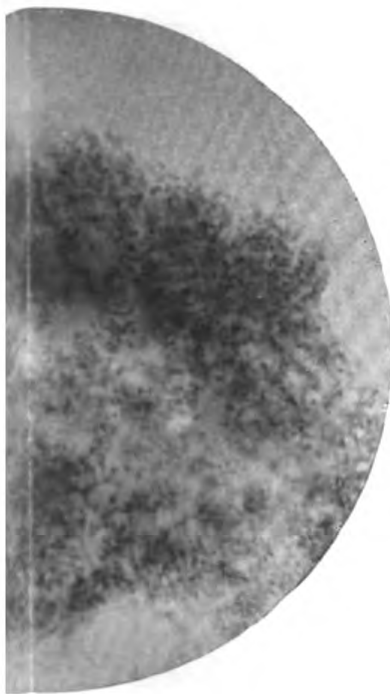


Fig. 10.

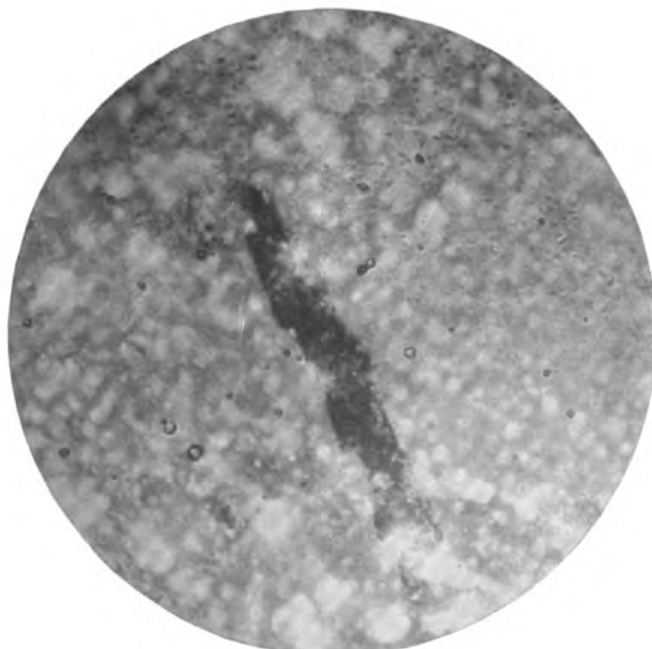


Fig. 12.

Dr. Fischer in Jena.

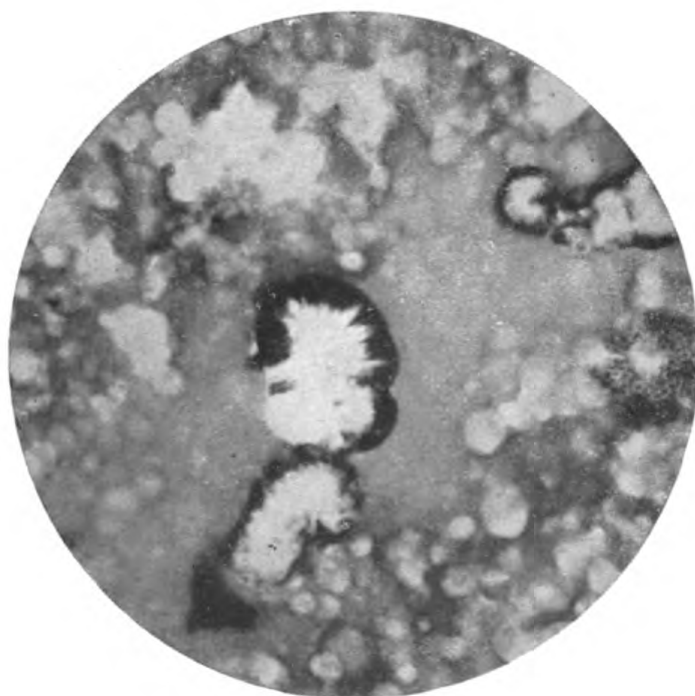


Fig. 13.

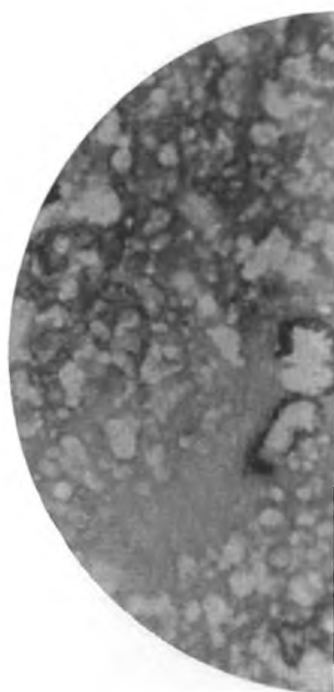
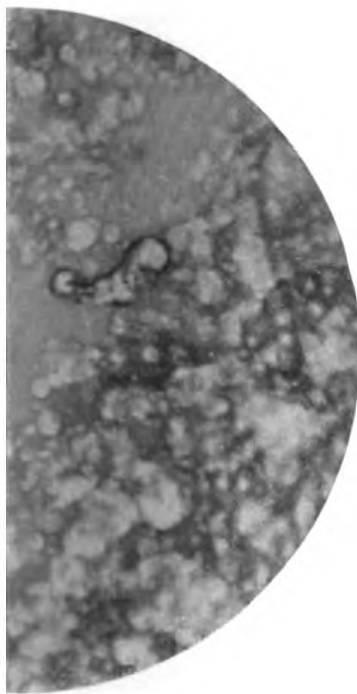


Fig.

Verlag von Gusta



14.

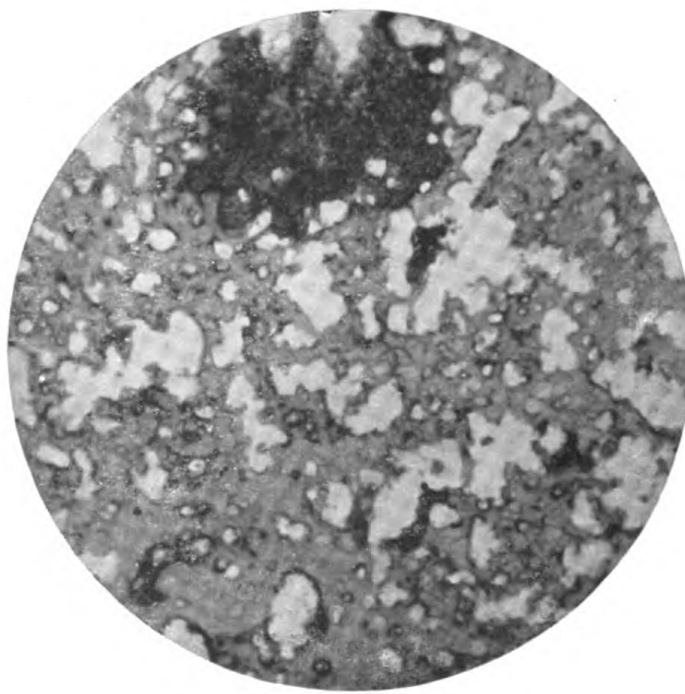


Fig. 15.

Fischer in Jena.

Fig. 8. Schnitt von einem ca. 1 Monat alten Käse; Rand eines Loches und langgestreckte Kolonie.

Fig. 9. Schnitt von einem ca. 1 Monat alten Käse; Rand eines Loches mit Bakterienvegetation.

Fig. 10 und 11. Bakterienkolonien im reifen Käse.

Fig. 12. Bakterienkolonie in einem ca. 1 Monat alten Käse. (Vergr. 460-fach.)

Fig. 13. Schnitt von einem ca. 1 Monat alten Käse. Hellgraue Partie mit Bakterienkolonie und Bildungen mit Lamellen.

Fig. 14. Dieselbe Partie wie Fig. 13 mit Umgebung. (Vergr. 460-fach).

Fig. 15. Bakterienkolonie und Bildungen mit Lamellen, 1 Monat alter Käse. (Vergr. 460-fach.)

Juni 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern.

Von cand. med. Oscar Adler.

I. Einleitung.

In meinen zwei Mitteilungen über biologische Untersuchungen von natürlichem Eisenwasser¹⁾ war ich in der Lage, einige Tatsachen vorzubringen, welche dafür sprechen, daß neben anderen Faktoren — wie insbesondere das Entweichen der Kohlensäure beim Füllen und Aufbewahren — auch eisenspeichernde Mikroorganismen in Bezug auf mangelnde Haltbarkeit der Eisenwässer eine Rolle spielen.

Es war nun im folgenden meine Aufgabe, eine größere Zahl von — meist im Handel befindlichen und zu therapeutischen Zwecken verwendeten — natürlichen Eisenwässern systematisch auf das Vorkommen von eisenspeichernden Organismen zu untersuchen. Bevor ich nun daran ging, unter der Leitung meines verehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. Molisch, mich dieser Aufgabe zu unterziehen, habe ich mich vorerst ganz allgemein mit dem Studium der eisenspeichernden Organismen befaßt. Die Anregung hierzu erteilte mir Herr Prof. Molisch, dessen Werk²⁾ „Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen“ bereits hinlänglich die Wichtigkeit eines derartigen Unternehmens gezeigt hat. Ich erlaube mir daher, gleich an dieser Stelle für die so oftmals erteilten Winke Herrn Prof. Molisch meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Speziell folgenden Organismen habe ich meine Aufmerksamkeit zugewendet:

Crenothrix polyspora Cohn.

Cladothrix dichotoma Cohn.

Leptothrix ochracea Kützing.

Anthophysa vegetans O. F. Müller.

Gallionella ferruginea Ehrenberg.

Auch war es erforderlich, auf die eisenspeichernde Fähigkeit der Pilze, die ich in einer Anzahl von Eisenwässern fand, ferner von Aktinomyceten und Bakterien Rücksicht zu nehmen.

1) Adler, Oscar, Deutsche mediz. Wochenschrift. 1901. No. 26 u. 52.

2) Jena (Gust. Fischer) 1892.

Im folgenden will ich die Resultate meiner Untersuchungen über die eisenspeichernden Organismen in Kürze wiedergeben;

II. Untersuchungen über eisenspeichernde Organismen.

a) Eisenbakterien und *Anthophysa vegetans*.

Crenothrix polyspora Cohn¹⁾. Diesen zuerst von Cohn beschriebenen Organismus fand ich konstant im Prager Leitungswasser. Insbesondere findet man die *Crenothrix* dann in größerer Menge, wenn die Leitung, aus der man entnimmt, eine Zeit lang nicht im Gebrauche war und man das Wasser in kräftigem Strahle in ein größeres durchsichtiges Gefäß fließen läßt. Der Organismus findet sich in so charakteristischer Form, daß man ihn meist mit Sicherheit schon makroskopisch erkennen kann. Fast immer sitzen die *Crenothrix*-Fäden einem Klümpchen von Eisenoxydhydrat radienförmig auf, so daß ein Gebilde etwa von Insektenform resultiert.

Die Scheiden der *Crenothrix* aus dem Prager Leitungswasser habe ich fast niemals deutlich mit Eisenoxydhydrat inkrustiert gefunden. Stets waren sie blaß und ergaben mit der Berlinerblauprobe nur eine schwache Blaufärbung.

Behandelt man *Crenothrix* nach vorhergehender Fixierung durch Erwärmen am Objektträger mit den gebräuchlichen Farbstoffen, so färben sich die Zellen der *Crenothrix* leicht und intensiv, die Scheiden dagegen nur sehr schwach oder gar nicht. Es zeigt sich dabei, daß den Scheiden stets massenhaft intensiv gefärbte stäbchenförmige Bakterien angelagert sind; ganz besonders gut ist dies an den leeren Scheiden zu beobachten.

Um neben den Zellen auch die gegenüber Farbstoffen sehr resistenten Scheiden zu färben, gehe ich in folgender Weise vor:

Das Präparat wird auf dem Objektträger durch Erwärmen fixiert, hierauf Fischersche²⁾ Beize aufgetropft und nun vorsichtig bis zur Dampfbildung erwärmt (etwa 3 Min.). Sodann wird das Präparat gründlich mit Wasser abgespült und schließlich mit wässrigem, neutralem Fuchsin gefärbt; es empfiehlt sich hierbei eine gelinde Erwärmung.

Vergebens habe ich es versucht, *Crenothrix polyspora* in vitro zu kultivieren. Es ist mir, trotzdem ich die verschiedensten Kulturbedingungen herstellte, niemals gelungen, eine Vermehrung der *Crenothrix* herbeizuführen. Auch beim Winogradsky'schen³⁾ Versuche zur Kultur von *Leptothrix ochracea*, bei dem hier stets auch *Cladothrix dichotoma* und *Anthophysa vegetans* aufging, ergab sich mir niemals ein Wachstum der *Crenothrix*.

Mit der von Rössler⁴⁾ speziell zur Kultur von *Crenothrix polyspora* angegebenen Methode habe ich niemals ein positives Resultat zu erzielen vermocht.

Leptothrix ochracea Kützing⁵⁾ und *Cladothrix*

1) F. Cohn, Beitr. z. Biologie d. Pfl. Bd. I. Heft 1. p. 108 ff.

2) Vergl. Alfred Fischer, Untersuchungen über Bakterien. Berlin 1894. p. 82.

3) Bot. Zeitung. 1888. p. 261 ff.

4) Rössler, Arch. f. Pharm. Bd. CCXXXIII. 1895.

5) Vergl. Winogradsky, l. c.

dichotoma Cohn¹⁾. Zur Kultur dieser Eisenbakterien wurde folgende ganz einfache Methode verwendet: Das Wasser, aus dem diese Organismen kultiviert werden sollen (am besten eignete sich Leitungswasser), wird mit einer solchen Menge von Eisenammoncitrat²⁾ versetzt, daß die resultierende Lösung 0,05 Proz. beträgt. Die Lösung wird in ein Hyazinthenglas gefüllt, dasselbe mit einer Glasplatte bedeckt und an einem geschützten Orte aufgestellt.

Meist nach Verlauf einiger Tage, in einigen Fällen erst nach längerer Zeit entwickeln sich an den Wänden des Gefäßes reichlich gelbliche Flocken von *Leptothrix* und *Cladothrix*, ferner fand sich meist auch die nachher zu besprechende *Anthophysa vegetans*. Auch das sich bildende Häutchen und der bald entstehende Niederschlag besteht zum großen Teile aus den erwähnten Organismen.

Es empfiehlt sich, die Versuche nicht zu bald zu beenden, da sich bisweilen nach einiger Zeit ein großer Teil der Glaswand des Gefäßes fast ausschließlich mit Eisenbakterien bedeckt.

Abgesehen von der Einfachheit dieser Methode, möchte ich insbesondere auf zwei Vorzüge derselben vor der Winogradsky'schen Methode hinweisen:

1) Beim Winogradsky'schen Kulturversuche wachsen neben den eisenspeichernden eine Unmasse anderer pflanzlicher und tierischer Organismen, während meine Kulturen meist einen für eisenspeichernde Organismen nahezu selektiven Charakter zeigen, da die übrigen vorkommenden Organismen sehr in den Hintergrund treten.

2) Bei meinen Kulturversuchen verwende ich eine bestimmte Menge einer chemisch genau definierten Substanz, was beim Winogradsky'schen Versuche nicht der Fall ist.

Denn von dem von Winogradsky verwendeten Eisenoxydhydrat geht nur ein sehr geringer Teil direkt in Lösung, ein weiterer Teil muß vorher erst durch langsam vor sich gehende biologische Prozesse reduziert werden, so daß wir nicht genau zu sagen vermögen, wieviel Eisen in der Flüssigkeit in Lösung ist. Das zugesetzte Heu ist eine je nach den Verhältnissen wechselnde, nicht gut definierbare Substanz, und es ist auch hierbei nicht immer leicht, zu sagen, was eigentlich aus dem Heu in Lösung gegangen ist.

Anthophysa vegetans O. F. Müller³⁾. Läßt man Prager Leitungswasser einige Zeit hindurch in einem durchsichtigen Gefäße ruhig stehen, so bemerkt man am Boden desselben vereinzelte, gelbbraune Flöckchen. Sehr oft erscheint das Wasser gleich bei der Entnahme — besonders am Morgen — durch rostbraune Krümel stark getrübt, eine Kalamität, unter der wir in Prag manchmal recht empfindlich zu leiden haben.

Die erwähnten gelbbraunen Flöckchen erweisen sich unter dem Mikroskope als die mit Eisenoxydhydrat stark inkrustierten Stiele eines der Klasse der Mastigophoren, der Familie der Dendromonaden angehörigen Protozoons, der *Anthophysa vegetans*.

Auch beim Kulturversuche nach Winogradsky ging stets neben *Leptothrix* und *Cladothrix*, wie erwähnt, auch Antho-

1) Cohn, Beitr. zur Biologie d. Pfl. Bd. I. Heft 3. p. 185.

2) Bezogen von Huněk in Prag.

3) Vergl. Kirchner u. Blochmann, Die mikr. Pflanzen- u. Tierwelt d. Süßwassers. T. II. 1895. p. 42.

physa vegetans auf, ebenso bei der von mir angegebenen Kulturmethode. Infolge des für eisenspeichernde Organismen mehr selektiven Charakters der letzterwähnten Methode war ich meist in der Lage, bei frühzeitiger und vorsichtiger Untersuchung auch die Anthophysazellen unter dem Mikroskope wahrzunehmen.

Im Anschlusse an die Untersuchungen von Molisch über Manganspeicherung bei Eisenbakterien¹⁾, versuchte ich der Frage näher zu treten, ob auch die Anthophysa vegetans neben dem Eisen das diesem nahestehende Mangan in ihre Stiele zu speichern vermag.

Ich verwendete hierbei anstatt des sonstigen Zusatzes von Eisenammoncitrat ein Präparat, in dem das Ammon durch das Mangan ersetzt ist, also Eisenmangancitrat. Bei diesen Versuchen erhielt ich schöne isolierte Kulturen der Anthophysa vegetans. Dieselben hafteten am Boden des Gefäßes in Form von strauchartigen Gebilden und zeigten eine schwarzbraune Farbe. Die einzelnen Anthophysa-Kolonieen wachsen hierbei so distinkt, daß man sie bei einiger Uebung mit Sicherheit schon mit freiem Auge zu erkennen vermag. Untersuchen wir eine derartige Kolonie unter dem Mikroskope, so fällt uns vor allem die kolossale Dicke der Mangan-Anthophysa auf. Auch durch ihre schwarzbraune Färbung unterscheidet sie sich von der gewöhnlichen Eisen-Anthophysa. Wir unterscheiden nun bei der mikroskopischen Betrachtung an der Anthophysa²⁾ zwei Schichten:

Eine zentrale, dunklere, welcher der Stiel zu Grunde liegt, und eine periphere, hellere. Letztere kann sich unter Umständen von der ersteren streckenweise abheben.

Zum Nachweis der Manganspeicherung bei Anthophysa ging ich nun in folgender Weise vor: Eine Anzahl von Kolonieen der Mangan-Anthophysa wurde dem Gefäße mittels Pipette entnommen und hierauf mikroskopisch untersucht; es wurde mit Sicherheit konstatiert, daß es sich um die inkrustierten Stiele der Anthophysa handelte. Diese wurden nun gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen. Die chemische Untersuchung mit der Perle (salpetersaures Kali und Soda) in der nichtleuchtenden Flamme des Bunsen-Brenners ergab nun das reichliche Vorhandensein von Mangan, was sich in einer prachtvollen Blaugrünfärbung der Perle aussprach.

Auffallend ist hierbei, daß die Anthophysa-Skelette in der Mangankultur eine im Vergleiche zur Eisen-Anthophysa ganz kolossale Dicke erreichen. Ich habe diesbezügliche mikrometrische Vergleichsmessungen angestellt und aus einer größeren Anzahl solcher Messungen folgende Durchschnittswerte erhalten:

Anthophysa in ferrum ammoniatum citricum:

Ganze Breite (zentrale + periphere Zone) = 20,7 μ

Zentrale Zone = 4,6 μ

Anthophysa in ferrum manganocitricum:

Ganze Breite = 59,8 μ

Zentrale Zone = 13,8 μ

1) Molisch, l. c. p. 71 f.

2) Wenn im folgenden von Anthophysa die Rede ist, so sind nur die Stiele derselben gemeint, da die Zellen selbst Eisen nicht speichern.

Es ist also durch die erwähnten Versuche der Nachweis erbracht, daß *Anthophysa vegetans* neben dem Eisen auch das Mangan zu speichern vermag, und zwar in viel größerem Maße als das Eisen.

Fragen wir uns nun, welche Bedeutung das Eisen¹⁾ für das Leben der *Anthophysa vegetans* besitzt, so möchte ich die Frage in dem Sinne beantworten, daß das Eisen — abgesehen von geringen Spuren, die zum Leben überhaupt notwendig sind — für das Leben der *Anthophysa* von keiner wesentlichen Bedeutung zu sein scheint.

Für diese Ansicht spricht folgendes:

1) Bei *Anthophysa vegetans* speichern nur die Stiele Eisenoxydhydrat, während die Zellen, die Träger des Lebens, Eisen nicht anhäufen. Die Stiele selbst sind aber Sekretionsprodukte der Zellen, ähnlich wie etwa ein Spinnfaden ein Sekretionsprodukt der Spinne ist.

2) Die Eisenspeicherung ist für diese Organismen nicht spezifisch, da dieselben neben dem Eisen auch das Mangan zu speichern vermögen, und letzteres sogar in viel reichlicherer Menge gespeichert wird.

Die in diesem Abschnitt angeführten Versuche habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Oswald Richter, Assistenten am pflanzenphysiologischen Institute, ausgeführt, wofür ich ihm meinen aufrichtigen Dank ausspreche.

b) Mycelien und Bakterien.

Pilze. Aktinomyceten. Bakterien. Das konstante Vorkommen von Pilzfäden in einer Anzahl von therapeutisch verwendeten Eisenwässern (Guberquelle, Roncigno, Levico u. a.) veranlaßte mich, auch diesen Organismen meine Aufmerksamkeit zuzuwenden. Pilze, die eine Zeit hindurch in Roncignowasser (schwefelsaures Arseneisenwasser) gezüchtet wurden, ergaben nachher eine deutliche Eisenprobe. Auch waren massenhaft Klümpchen vorwiegend von Eisenoxydhydrat in das Mycel eingelagert.

Ein ähnliches Verhalten zeigen Aktinomyceten worauf *Nadson*²⁾ in einer kürzlich in russischer Sprache erschienenen Arbeit hingewiesen hat. Versuche, die ich mit *Actinomyces „Peterson“* machte, ergaben, daß diesem Mikroorganismus die Fähigkeit der Eisenspeicherung zukommt³⁾.

Auch Bakterien (Stäbchen), die sich in den eigentümlichen, schillernden Häutchen alter eisenhaltiger Kulturen bisweilen massenhaft finden, erweisen sich oft als deutlich mit Eisenoxydhydrat inkrustiert. In den Niederschlägen aus älteren Eisenwässern lassen sich nach Behandlung mit konzentrierter Salzsäure nicht selten massenhaft Stäbchen mit Sicherheit nachweisen. —

Im folgenden will ich meine Beobachtungen über *Gallionella ferruginea* Ehrenberg mitteilen, einem Organismus, der bisher nur relativ selten aufgefunden wurde, den ich aber in natürlichen Eisenwässern recht häufig aufzufinden Gelegenheit hatte.

(Schluß folgt.)

1) Es ist hier nur das locker gebundene Eisen gemeint.

2) *Nadson*, G., Die Mikroorganismen als geologische Faktoren. I. 1903.

3) Allerdings konnte ich Aktinomyceten in natürlichen Eisenwässern niemals mit Sicherheit nachweisen.

Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität Bologna.
Direktor: Prof. Dr. G. Sanarelli.]

Von Dr. med. **Guido Q. Ruata**, Assistenten am Institute.

Die verschiedenen Methoden, welche heutzutage gebräuchlich sind, um den bakteriischen Inhalt der Wässer zu bestimmen, sind noch weit entfernt, genaue Angaben zu liefern, weil die Einwendungen, die man in jedem Falle dem Resultate der Zählung der Keime gegenüber machen kann, ihnen zuletzt meistens ihren größten Wert absprechen.

Eine ernste Einwendung wird besonders dem Nährmittel gegenüber gemacht, in welchem das zu untersuchende Wasser ange-
setzt ist. Die Herrichtung der Gelatine, welche das gewöhnlich gewählte Nährmittel ist, ist großen Unterschieden unterworfen, welche außer vom Klima und von den Jahreszeiten noch vom Materiale und von dessen Herrichtung und von seiner Reaktion abhängen.

Diese verschiedenen Zustände üben einen großen Einfluß auf die Entwicklung der Mikroben aus.

Reinsch hat nachgewiesen, daß die Entwicklung der Wasserkeime den größten Veränderungen unterworfen ist, auch wenn man der Gelatine nur die kleinsten Quantitäten von sauren oder basischen Stoffen hinzufügt. Diese sehr starke Empfindlichkeit der Keime für die Reaktion des Kulturmittels gab dem Verf. selbst den Rat, in der Zubereitung der Gelatine die genauesten und zartesten alkalimetrischen Dosierungen anzuwenden.

Dessenungeachtet wird man, auch unter Befolgung dieser von Reinsch vorgeschlagenen Methode, niemals die Frage lösen, denn es wird niemals möglich sein, einen sozusagen universalen Nährboden zu erhalten, dessen Reaktion immer denselben Einfluß auf die Entwicklung aller Arten von Mikroben ohne Ausnahme ausübt.

Ferner kann man die Gelatine ihrer leichten Schmelzbarkeit wegen keiner Temperatur aussetzen, welche 20—22 ° C übersteigt: nun entwickeln sich aber zahlreiche Mikroorganismen, unter ihnen einige sehr wichtige, bei dieser Temperatur nicht, und gehen also deswegen für die Zählung verloren, und mit ihnen werden auch die nicht wenigen Arten verloren gehen, für welche die Gelatine kein geeigneter Nährboden ist.

* * *

Von allen vom Medium abhängenden Zuständen abgesehen, ist festzustellen, nach wie langer Zeit man sicher sein kann, daß alle auf eine Platte ausgesäeten Keime sich entwickelt haben.

Miquel ist der Meinung, daß die Inkubationsperiode nicht kürzer als 15 Tage sei, und mit ihm stimmen die anderen Autoren überein. Deswegen würde eine vor Ablauf dieser Frist unternommene Zählung unvollständig sein, denn sie würde nicht

alle Mikroorganismen miteinbegreifen, welche sich weiterhin entwickeln könnten. In der hier eingeschalteten Tabelle teilt Miquel, nach seiner auf eine lange Praxis sich stützenden Erfahrung, wie folgt, das Verhältnis der täglichen Entwicklung auf 1000 Mikroben binnen obenerwähnter 15-tägiger Zeitperiode ein:

Dauer der Inkubation der Wasserkeime in Gelatine.

Inkubation	erschlossene Kolonieen	Koeffizient
1 Tag	20	50,000
2 Tage	136	7,353
3 "	254	3,937
4 "	387	2,584
5 "	530	1,887
6 "	637	1,570
7 "	725	1,379
8 "	780	1,282
9 "	821	1,224
10 "	859	1,164
11 "	892	1,121
12 "	921	1,086
13 "	951	1,052
14 "	976	0,024
15 "	1000	1,000

Darum, wenn man die Zählung vor diesem Termine einstellen muß, rät Miquel an — um eine der wirklichen nähere Zahl zu erreichen — die gefundene Zahl mit dem dem Tage, an welchem die Zählung stattgefunden hat, entsprechenden Koeffizienten zu multiplizieren.

Gleichfalls hat Abba, sich auf seine Beobachtungen stützend, folgende Tabelle kompiliert, nach welcher die Zahl der vor dem 15. Tage gezählten Kolonien noch hinzugefügt werden müßte:

nach 1 Tage Entwicklung	99 pro 100
2 Tagen	78 " "
3 "	70 " "
4 "	57 " "
5 "	48 " "
6 "	41 " "
7 "	37 " "
8 "	30 " "
9 "	24 " "
10 "	20 " "
11 "	13 " "
12 "	7 " "
13 "	5 " "
14 "	2 " "
15 "	0 " "

Diese arithmetischen Ausflüchte werden durch den Umstand empfohlen, daß man sehr oft die Zählung nicht nach Verlauf der notwendig erachteten 15 Tage vornehmen kann. Die verflüssigenden Keime, welche sich auf der Gelatine entwickeln können, können, indem sie sich mehr oder minder darüber ausbreiten, auch sehr früh, z. B. nach einem oder zwei Tagen, jede Zählung vereiteln. Eine unter diesen Umständen vorgenommene Zählung kann folglich nur sehr unvollkommene Resultate geben, welche kaum durch die Anwendung der Koeffizienten von Miquel oder von Abba, oder von denjenigen Koeffizienten, welche die eigene Erfahrung hat empfehlen können, verbessert werden.

Es ist natürlich, daß diese Widerwärtigkeit leichter bei den an Mikroben sehr reichen Wässern eintritt, woraus folgt, daß das zu untersuchende Wasser unter Umständen ausgesät werden muß, die verhindern, daß eine übermäßige Anzahl von Mikroorganismen der Zählung hinderlich ist.

Diesen Zweck erreicht man, indem man das Wasser direkt teilt, oder mit Verdünnungen, deren Titer bekannt ist.

In dieser Hinsicht schreibt Miquel:

„Da der meiste Teil der Naturalwässer eine ziemlich große und in jedem Falle sehr veränderliche Zahl von Bakterien enthält, ist die erste Schwierigkeit, welche sich dem Analytiker darbietet, diejenige, zu wissen, in welcher Dosis er die empfangene Probe aussäen muß, um in Bouillon oder auf den Platten eine angemessene Zahl von Veränderungsfällen oder von Kolonien zu erhalten: wenn der Wert dieser Zahl zu niedrig ist, so wird der Faktor bedeutend von einer zufälligen Aussaat beeinflusst werden können; wenn dieser Wert zu hoch ist, haben wir schon gesehen, welche negative Fehlerquelle entstehen kann; sich die Kenntnis verschaffen, bis zu welchem Grade die Verdünnung gebracht werden muß, ist das erste zu lösende Problem.“

„Das Quellwasser, welches als sehr rein betrachtet wird, kann von 1—100 Mikrobien auf 1 ccm enthalten; das Quellwasser, welches zufällig oder periodisch, entweder vom über den Boden geflossenen Regenwasser, oder von einem stark inquinieren Wasserströme verunreinigt wird, ist weit unreiner; die Zahl der Bakterien kann in diesem Falle zwischen 100 und 1000, ja sogar mehreren Tausenden schwanken. Das Flußwasser besitzt einen Mikrobenreichtum, welcher gewöhnlich zwischen 10000 und 100000 schwankt. Das Wasser der Drainagegräben enthält auf das nämliche Volumen beiläufig 10 Millionen Bakterien; und endlich die schmutzigen und stinkenden Hauswässer, welche in den Gräben stille stehen, die Flüssigkeiten der Abortgruben und Kloaken können mehrere Hundert Millionen auf 1 ccm enthalten.“

„Der Ursprung eines Wassers ist ein schon vom Anfang zu kennendes wertvolles Anzeichen, denn es kann dem Experimentator den Zeitverlust der Präliminaruntersuchungen ersparen. Aber oft kann dieses Anzeichen fehlen: wer die bakteriologische Analyse eines Wassers verlangt, glaubt manchmal, daß es seine Pflicht sei, dem Analytiker die Natur der gegebenen Flüssigkeit nicht wissen zu lassen, ohne Zweifel, damit die Ergebnisse nicht durch vorgefaßte Meinungen beeinflusst werden können. Andere glauben noch, und es ist ganz richtig, daß die vorgefaßten Meinungen den beobachteten Tatsachen weichen müssen, und kleben zu diesem Zwecke den Gefäßen falsche Zettel mit veränderten Angaben an. Es gibt endlich eine letzte Klasse von Personen, welche sich ein Vergnügen daraus machen, die schon so schwierige Arbeit des Bakteriologen noch zu erschweren, indem sie Mischungen reiner und unreiner Wasser bewerkstelligen, Quellwässern von herrlicher Klarheit irgend welchen Tropfen einer faulen Flüssigkeit zugeben, offenbar um den Einblick des Operateurs zu verschärfen und vielleicht auch um ihn wohlwollenderweise zum Besten zu

haben, wenn er diese groben Verunreinigungen nicht wahrnimmt. Glücklicherweise sind die bakteriologischen Untersuchungsmethoden heutzutage genügend sicher, um diese Betrügereien zu entdecken; nur ein Neuling unter den Mikrographen könnte höchstens, falls ihm die Probe in gutem Zustande zugekommen sei, an einen eigenen Fehler oder an die unvollkommene Sterilisation der angewandten Mittel glauben.“

„Dessenungeachtet gibt es verhältnismäßig sehr häufig Fälle, bei welchen die zur Untersuchung eingesendeten Wasser — ich will von denen sprechen, welche den Zettel Brunnen- oder Zisternenwasser tragen — dem Untersucher nichts von dem darbieten, was ihn nützlicher Weise leiten könnte. Ziehbrunnenwasser kann sich gerade so rein wie Quellwasser darstellen, wie auch eine solche Anzahl Bakterien enthalten wie das unreinste Fluß- oder Kanalwasser“.

* * *

Die Notwendigkeit, das Wasser zu teilen, ist schon von allen Autoren anerkannt, und zu diesem Zwecke werden zahlreiche Methoden vorgeschlagen; diese können aber alle in zwei Gruppen zusammengefaßt werden: 1) Verfälschungsmethoden mit direkter Teilung; 2) Verfälschungsmethoden mit Verdünnung.

Den verschiedenen Methoden mit direkter Teilung gemäß wird das Wasser direkt in Kubikcentimeterfraktionen auf Gelatine ausgesät; diese Fraktionen werden entweder durch bis zu $\frac{1}{10}$ oder $\frac{1}{20}$ ccm graduierte Pipetten erhalten (Petri, Fischer), oder durch Pipetten oder Tropfenzähler, welche auf 1 ccm eine gewisse Zahl von Tropfen geben, als da wären die Pipetten nach Alvergnyat, zu 50 Tropfen (Besson), die Kapillarrohre nach Gabritschewsky, oder endlich die gewöhnlichen Pipetten zu 20 Tropfen per Kubikcentimeter (Berlioz, Abel).

Es ist klar, daß man mit diesen Methoden nur noch zu große Fraktionen des Kubikcentimeters erhalten kann, besonders wenn es sich darum handelt, an Mikrobien auch nur mittelmäßig reiche Wasser zu untersuchen. Uebrigens ist die Behandlung so geringer Quantitäten von Flüssigkeit nichts weniger als leicht und kann auch den erfahrensten Praktiker in Irrtum bringen.

Der Gebrauch der Fraktionierung des Wassers zu Tropfen ist nicht ratsam — wie Abba richtig bemerkt — nicht nur weil, wenn man die Pipetten wechselt, das Volumen sich ändert, sondern besonders, weil die Pipetten, wenn sie sterilisiert werden, nachdem sie sorgfältig geaicht worden sind, beträchtliche, der Sterilisierungshitze zuzuschreibende Kaliberveränderungen aufweisen können, und das nochmalige Aichen vor dem Gebrauche erschwert besonders das Arbeiten und vermehrt die Gelegenheit zufälliger Infizierungen.

Die Verdünnungsmethoden stellen sich hingegen, was die Genauigkeit betrifft, unter besseren Umständen dar.

Miquel und G. Roux haben vorgeschlagen, diesen Methoden Präliminaruntersuchungen vorangehen zu lassen, um beiläufig zu erkennen, bei welchem Verdünnungsgrade man das Wasser aus-

säen soll. Diese Präliminaruntersuchungen haben aber den Nachteil, daß sie die definitive Analyse um wenigstens 24 Stunden verspäten, während welcher Frist das Wasser in Eis gehalten werden muß. Nach den Studien von Förster und anderer Autoren gibt es aber verschiedene Mikroben, welche sich auch bei einer Temperatur von 0° entwickeln können, und der Umstand, auch diesem Zuwachse Rechnung tragen zu müssen, könnte nicht wenig die Endergebnisse ändern. Es ist wohl wahr, daß, nach Miquel, wenn bei einer Temperatur von 0° eine große Anzahl von Arten sich noch vermehren kann, andere zartere Arten gänzlich verschwinden; es tritt also wirklich ein gewisses Gleichgewicht zwischen Aufleben und Absterben ein.

Miquel war der erste, welcher die Methode der Verdünnungen adoptierte. Sein ursprünglicher Verfahrensprozeß bestand besonders darin, das Wasser in einer großen Anzahl von Destillierkolben mit Bouillon zu verdünnen. Diese Methode bot keine geringen Schwierigkeiten dar, sei es für die große Menge des bei jeder Analyse notwendigen Materials, sei es für die nicht ungewöhnliche, zur richtigen Beurteilung der Ergebnisse erforderliche Praktik, woraus folgte, daß obwohl diese Ergebnisse unter Miquel eine große Genauigkeit erreichten, dessenungeachtet diese Methode niemals allgemein gebräuchlich wurde.

Gegenwärtig hat Miquel einen Verdünnungsprozeß — von ihm procédé mixte genannt — an die Stelle gesetzt, welchen ich hier lieber als die von anderen Autoren vorgeschlagenen wiedergeben will, weil er unter allen der praktischste und vollkommenste ist:

Mittels einen Kubikcentimeter haltender sterilisierter Pipetten wird das Wasser nach dem Keimreichtume zu 1:10, 1:50, 1:100 in Kapuzenkolben aus Taubglas oder in flachbodigen, mit Wattepfropf versehenen Fläschchen verdünnt, in welchen bekannte Quantitäten von destilliertem Wasser sterilisiert werden.

Die Verdünnungen 1:10, 1:100, 1:400, 1:1000 werden direkt vorgenommen, indem man 1 ccm des zu untersuchenden Wassers mittels einer Pipette des nämlichen Volumens in 9, 99, 399, 999 ccm sterilisierten Wassers bringt. Eine Verdünnung höheren Titors, z. B. 1:100000, wird in zwei Zeiten ausgeführt: Man macht in der jetzt angegebenen Weise eine erste Verdünnung zu 1:1000; sodann trägt man 1 ccm dieser verdünnten Flüssigkeit in 99 ccm sterilen Wassers. Man vermeidet es so, zu beträchtliche Quantitäten sterilisierten Wassers zu gebrauchen; es ist auch nicht ratsam, zu kleine Quantitäten des zu analysierenden Wassers zu gebrauchen, wie z. B. 1 ccm wäre, der in 1 l sterilisierten Wassers ausgesät werden sollte, um eine Verdünnung von 1:10000 zu erhalten, denn nicht immer ist man der Genauigkeit des Maßes sicher.

Wenn die Verdünnungen auf diese Weise erhalten worden sind, entnimmt man von jeder 2 ccm Flüssigkeit — indem man sich 2 ccm haltiger Pipetten bedient, die bis auf $\frac{1}{8}$ ccm graduiert sind — und für jede Verdünnung sät man eine Reihe von 6 Platten aus, so daß auf jede Platte $\frac{1}{8}$ ccm kommt. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Gloeosporium-Fäule bei Kirschen.

Von Dr. A. Osterwalder, Assistenten an der Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.

[Gärungstechnische und bakteriologische Abteilung.]

Mit 1 Tafel.

Als Fäulniserreger bei Kirschen gelten *Penicillium glaucum* Lnk. und *Sclerotinia fructigena* (Pers.) Schröt. Neben diesen beiden haben wir diesen Sommer, wenn auch weniger häufig als die vorgenannten, eine *Gloeosporium*-Species als Fäulnispilz bei roten und schwarzen Kirschensorten auftreten sehen. Bei Äpfeln erzeugt bekanntlich *Gloeosporium fructigenum* Berk. die sogenannte Bitterfäule. Wenn der Pilz auch nicht häufig auftritt, so hat man doch jedes Jahr Gelegenheit, bitterfaule Äpfel zu beobachten. Auf Pflirschen und Aprikosen soll *Gloeosporium laeticolor* Berk. „kreisrunde, eingedrückte, mißfarbige Flecken, die von einem helleren breiten Rande umgeben, in der Mitte weißlich ausgebleicht sind“, erzeugen (Frank).

Die *Gloeosporium*-Fäule bei Kirschen ist in den vorgeschrittenen Stadien ganz charakteristisch und kann leicht erkannt werden. Als Beweis hierfür diene die Mitteilung, daß mir ein 13-jähriger Knabe, nachdem ich ihn mit der Erscheinung bekannt gemacht, am folgenden Tage ca. 15 Stück *gloeosporium*-fauler Kirschen überbrachte. Der Faulfleck verfärbt sich braun und tritt namentlich bei den roten Kirschensorten (z. B. den sogenannten Herzkirschen) deutlich hervor. Auf der erkrankten Oberhaut treten herdenweise kleine kreisförmige, weiße Pusteln auf, von denen die kleinsten mit ca. 70 μ Durchmesser gegen den gesunden Teil hin liegen (Fig. 1). In der feuchten Kammer treten kurze Zeit nach ihrer Entstehung aus diesen Pusteln rotgelbe Tröpfchen aus, die ihrer großen Nähe wegen zu größeren Tropfen zusammenfließen. An der Luft verdunstet die ausgetretene Flüssigkeit rasch und hinterläßt eine rotgelbe Kruste, die aus Sporen gebildet ist. Bei den schwarzen Kirschensorten sinkt der erkrankte Teil rasch ein und wird runzelig. Ganz faule Früchte schrumpfen stark ein und weisen eine gerunzelte mit vielen Pusteln übersäte Oberfläche auf (Fig. 2). Bei den roten Kirschensorten, insbesondere den sogenannten Herzkirschen, die uns zur Beobachtung vorlagen, zeigt sich die Erscheinung des Einschrumpfens lange nicht in dem Grade wie bei den schwarzen Kirschen. Mehr als die Hälfte der Frucht kann verfärbt und mit Sporenlagern bedeckt sein, ohne daß die Epidermis gerunzelt erscheint. Der Fäulnispilz durchwuchert das Innere der Kirschen stark, indem er auch in das Zellinnere eindringt. In der Epidermis, zwischen Cuticula und Zelllumen, bildet er Stromata (Fig. 4), durch deren Ausdehnung die Cuticula gesprengt und von der Epidermis abgehoben wird (Pustelbildung) (Fig. 3 und Fig. 5). Das Mycel ist farblos. Auf dem Stroma, das sehr mächtig und über die Epidermis herauswachsen kann

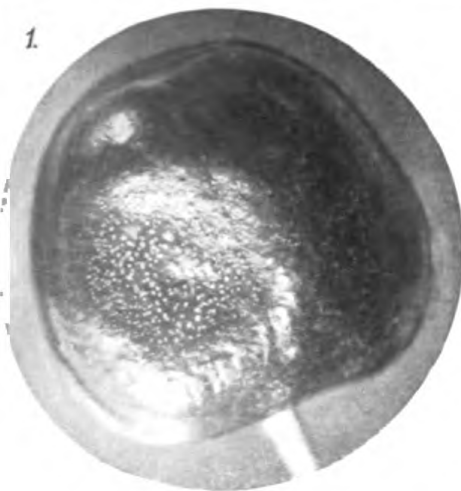
(Fig. 3), bilden sich die Konidienträger mit den Sporen (Fig. 6). Erstere sind cylindrisch bis kegelförmig, $14-22\ \mu$ lang und $2,4-3\ \mu$ breit. Die Sporen sind länglich-elliptisch bis elliptisch-eiförmig, farblos, mit feinkörnigem Inhalt und meist zentral oder wandständig gelegener Vakuole. Die meisten Sporen sind ca. $14,64\ \mu$ lang, ca. $4,88\ \mu$ breit; selten erreichen sie eine Länge von $19-20\ \mu$. Sie keimen sehr leicht in gewöhnlichem Wasser. Schon nach 4 Stunden können sich Keimschläuche von Sporenlänge bilden.

Nach Rabenhorsts Kryptogamenflora. Bd. I. Abt. VII. Lief. 82, sowie nach Saccardo sind die Sporen von *Gloeosporium fructigenum* Berk. $20-30\ \mu$ lang und $5-6\ \mu$ dick. Es stimmen also diese Größenverhältnisse nicht mit denjenigen der soeben beschriebenen *Gloeosporium*-Species überein. Ferner wird in den zitierten Werken bei der Beschreibung der Sporen von *Gloeosporium fructigenum* die sehr charakteristische Vakuole nicht erwähnt. Wir hätten also auf Grund dieser Angaben das *Gloeosporium* auf Kirschen nicht für identisch mit dem *Gloeosporium* auf Äpfeln gehalten, wenn wir nicht letztlich noch Gelegenheit gehabt hätten, die *Gloeosporium*-Fäule an einem Apfel zu beobachten. Die äußeren Fäulniserscheinungen dieses Apfels stimmten völlig mit denjenigen auf Kirschen überein. Auch beim Studium des Pilzes konnten wir keine Unterschiede konstatieren; die Größe der Sporen stimmte mit derjenigen der oben beschriebenen *Gloeosporium*-Sporen überein; auch die Vakuole fehlte nicht, so daß wir die beiden Pilze auf Kirschen und Äpfeln für identisch erklären müssen. Neben *Gl. fructigenum* ist noch *Gl. versicolor* Berk. et Cooke mit keulenförmigen Sporen von $0,01\ \mu$ Länge auf Äpfeln gefunden worden. Besser paßt die Beschreibung des eingangs dieser Mitteilung erwähnten *Gl. laeticolor* auf das *Gloeosporium* auf Kirschen. Bei dieser Species soll sich jedoch das Plasma an den Sporenden zurückgezogen haben, was wieder nicht mit der Beschaffenheit der Sporen von unserem *Gloeosporium* übereinstimmt. Dennoch sind wir der Ansicht, daß das beschriebene *Gloeosporium*, wenn nicht identisch, so doch nahe verwandt mit *Gl. laeticolor* Berk. ist. Da nun kaum anzunehmen ist, daß die Bitterfäule auf Äpfeln durch zwei verschiedene *Gloeosporien* verursacht wird, so halten wir die Bemerkung von Southworth im Journ. Myc. Vol. VI. p. 164 für richtig und beachtenswert, wonach *Gloeosporium fructigenum* Berk. (auf Früchten von *Pirus communis* in Großbritannien), *Gloeosporium laeticolor* Berk. (auf Früchten von *Persica* in Großbritannien), *Gloeosporium versicolor* Berk. et Cooke (auf Früchten von *Pirus malus* in Carolina) eine und dieselbe Species darstellen.

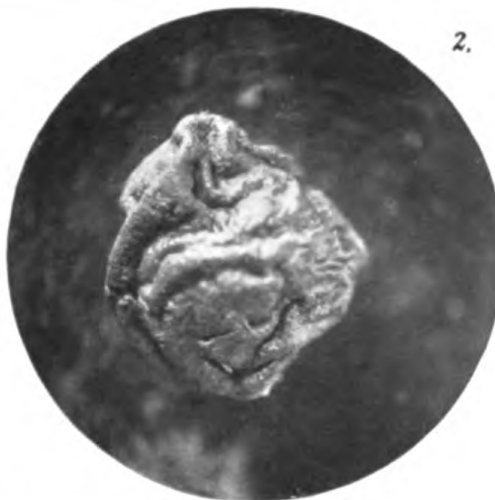
Infektionsversuche haben ergeben, daß unser Pilz nur durch verwundete Stellen eindringt und sich im Fruchtfleisch so rasch ausbreitet, daß schon nach ca. 5–10 Tagen Sporenlager oder Pusteln sich bilden.

Wädensweil, den 22. Sept. 1903.

1.



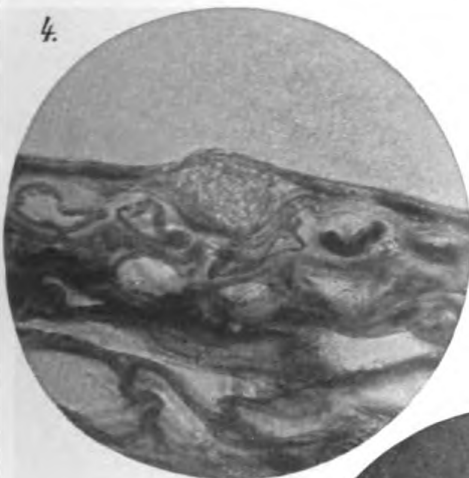
2.



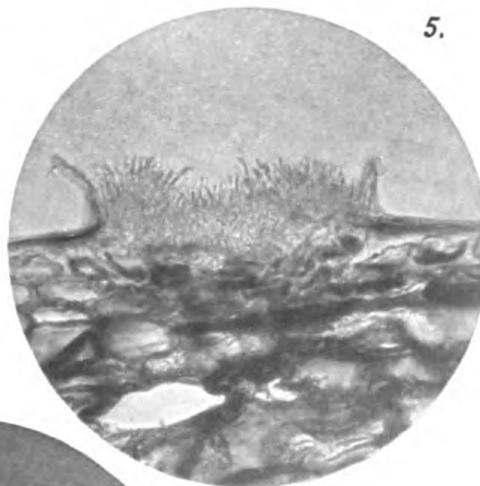
3.



4.



5.



6.



Referate.

Miquel, P. et Cambler, R., *Traité de bactériologie pure et appliquée à la médecine et à l'hygiène.* Paris (C. Naud) 1902.

Das vorliegende Werk, welches mehr als 1000 Seiten umfaßt, bietet kein geringes Interesse dar, nicht am wenigsten weil die Verff. Direktor und Unterdirektor des bakteriologischen Laboratoriums der Stadt Paris sind. Der Inhalt des Buches ist in vier Teile geteilt und ist in aller Kürze der folgende: Der erste Teil behandelt allgemeine Betrachtungen über die Bakterien und Untersuchungsmethoden und umfaßt die folgenden Kapitel: Die Morphologie, die Biologie, die Widerstandsfähigkeit gegen physikalische Faktoren und gegen chemische Faktoren, feste und flüssige Nährsubstrate, ihre Zubereitung und Sterilisation, die Züchtung unter Zutritt der Luft und unter Abschluß derselben, die Reinzucht und Aufbewahrung, Tierexperimente, mikroskopische Präparate, Färbemethoden, optische Apparate, Mikrophotographie und Kulturen unter dem Mikroskope. Der zweite Teil umfaßt die pathogenen Bakterien, der dritte Teil die zymogenen, chromogenen und allgemeinen Bakterien und der vierte Teil endlich enthält die Anwendung der Bakteriologie in der Hygiene.

Das wohlgeschriebene Werk studiert man mit großem Interesse. Die Verff. haben in höherem Grade als es gewöhnlich der Fall in Frankreich ist, auch die Literatur anderer Länder berücksichtigt, obwohl, wie zu erwarten war, die französischen Arbeiten in erster Linie herangezogen sind.

Für eine event. neue Ausgabe gestattet sich der Ref. auf folgende kleine Mißverständnisse aufmerksam zu machen: Seite 162 wird die erste Reinzuchtmethod Hansens besprochen, die, wie man sich erinnern wird, in einer Verdünnung der Kultur in der Nährflüssigkeit besteht, bis jeder zweiter Tropfen nur 1 Zelle enthält, und danach Aussaat eines Tropfens dieser Verdünnung in einer Reihe Kölbchen. In denjenigen Kölbchen, worin sich nur 1 Vegetationsfleck am Boden findet, ist eine Reinkultur. Verff. sagen indessen statt „1 Fleck“ „2 bis 3 Flecke“; dann aber ist ja gar keine Rede von einer sicheren Reinkultur. Die von Hansen hervorgehobene Pointe ist ja eben, daß nur 1 Fleck da sein darf. Ferner schreiben Verff., daß die 2. Reinzuchtmethod Hansens sich von 1886 datiert, aber schon im Jahre 1883 gab Hansen eine ausführliche Mitteilung darüber.

Auch in der Beschreibung von der Reinzuchtmethod P. Lindners auf Seite 164 ist ein Irrtum eingelaufen. Lindner gibt Tropfen der Nährflüssigkeit mit den Zellen an der Unterseite des Deckglases, aber nicht, wie Verff. sagen, Wasser mit den Zellen auf Nährsubstrat.

Die Fig. 107 auf Seite 234 ist Böttchers Kammer zu nennen und nicht „Cellule de van Tieghem et Lemonnier“. Die betreffende Kammer wurde von Böttcher schon 1866 in Virchows Archiv. Bd. XXXV. p. 122 beschrieben, während van Tieghem

und Lemonnier zuerst die Kammer im Jahre 1873 nach Aufklärung der Verff. selbst benutzten. Der Namen Böttchers hat deshalb die Priorität.

Diejenige Abteilung, welche die ammoniakalische Gärung bespricht, auf welchem Gebiete Miquel einen berühmten Namen gewonnen hat, wird mit besonderem Interesse gelesen. Es sind doch namentlich die zwei Abschnitte, welche die Luft- und Wasseranalysen im Dienste der Hygiene umfassen, die besonders das Werk für alle bakteriologischen Laboratorien unentbehrlich machen werden. Die vieljährigen Erfahrungen Miquels sind hier an einer Stelle gesammelt. Nach einer eingehenden geschichtlichen Einleitung, an welche einige Seiten über *Generatio aequivoca* geknüpft sind, geben die Verff. eine sehr ausführliche Beschreibung der verschiedenen Methoden und Apparate, welche bei den hygienischen Luft- und Wasseruntersuchungen benutzt werden. Zum Schlusse werden die statistischen Resultate der vieljährigen Untersuchungen Miquels in Paris in einer sehr übersichtlichen tabellari-schen Form gegeben.

Es ist ein Werk, das von jedem Laboratorium mit Freude zu begrüßen ist.

Der Text ist von mehr als 200 Abbildungen begleitet und die Ausstattung seitens des Verlegers ist mustergültig.

Klöcker (Kopenhagen).

Herzog, R., Zur Biologie der Hefe. (Zeitschr. physiol. Chemie. Bd. XXXVII. 1903. p. 396.)

Von verschiedenen Seiten wurde bereits der Einfluß der Temperatur auf die Entwicklungsgeschwindigkeit bestimmt. Aus den von O. Hertwig mit Froscheiern angestellten Versuchen hat E. Cohen dieselbe berechnet; auf die Bildung von Askosporen bei der Hefe ist eine solche Betrachtung ein leicht zugänglicher Fall. Setzt man die Geschwindigkeit, mit welcher die Sporenbildung bei der tiefsten Temperatur erreicht wurde, gleich 1, so ergibt sich aus Hansens Tabelle für

S. Pastorianus I.

Temp.		Zeit	Entwickelungs- geschwindigkeit
Bei 7,0°	Sporenanlagen nach 168 Stunden		1,0
" 8,5°	" " 120 "		1,4
" 10,0°	" " 89 "		1,9
" 15,0°	" " 50 "		3,4
" 18,0°	" " 35 "		4,8
" 23,5°	" " 26 "		6,5
" 27,5°	" " 24 "		7,0
" 29,0°	" " 27 "		6,2
" 30,5°	" " 30 "		5,6

S. cerevisiae I.

Temp.		Zeit	Entwickelungs- geschwindigkeit
Bei 11,5°	Sporenanlagen nach 240 Stunden		1,0
" 16,5°	" " 65 "		3,7
" 17,5°	" " 50 "		4,8
" 23,0°	" " 27 "		8,9
" 25,0°	" " 23 "		10,4

Temp.	Zeit	Entwickelungs- geschwindigkeit
Bei 30,0° Sporenanlagen nach	20 Stunden	12,0
„ 33,5° „ „	23 „	10,4
„ 35,0° „ „	25 „	9,6
„ 36,5° „ „	29 „	8,3

Trägt man auf die Ordinatenachse die Entwicklungsgeschwindigkeiten und auf die Abscissenachse die Temperaturen auf, so entstehen Kurven, welche große Aehnlichkeit mit von Tammann zuerst für Fermente erhaltenen zeigen. Wie diese haben sie ein Maximum. Ein solches Maximum zeigt eine Superposition zweier entgegengesetzter Einflüsse der Temperaturerhöhung an; einmal steigt die Geschwindigkeit des Vorganges mit der Temperatur, andererseits aber wird ein mit dem Vorgange verknüpft Element geschädigt.

Es scheint noch von Interesse, daß die von van t'Hoff bei chemischen Prozessen beobachtete Regel — einer Temperaturerhöhung von 10° entspricht etwa eine Verdoppelung bis Verdreifachung der Reaktionsgeschwindigkeit — auch in diesem Falle zutrifft.

Kommt man auch auf dem hier betretenen Wege wohl nicht zu einem tieferen Einblick der Vorgänge, so scheint doch schon die allgemeine Orientierung nicht völlig ohne Belang.

H. Will (München).

Melsenheimer, Jakob, Neue Versuche mit Hefepreßsaft. (Zeitschr. physiol. Chemie. Bd. XXXVII. 1903. p. 518.)

A. Macfadayen, G. H. Morris und S. Rowland hatten es geradezu als ein schwerwiegendes Argument gegen die Enzymnatur der Zymase bezeichnet, daß nach ihren Versuchen die Gärkraft des Preßsaftes schon durch Verdünnung mit nur einem Volumen Wasser fast vernichtet werden sollte (vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. Abt. II. 1901. p. 25). Nach den Versuchen des Verf. ist der Hefepreßsaft selbst bei 25facher Verdünnung noch imstande, beträchtliche Gärung hervorzurufen. Bei Verdünnung mit Kochsalzlösung war Gärung mit Sicherheit nicht nachzuweisen. Ein etwas günstigeres Resultat wurde erhalten bei Verdünnung mit 10-proz. Glycerinlösung, ein noch viel günstigeres, wenn eine 10-proz. Hühnereiweißlösung benutzt wurde.

Die Zymase vermag also auch noch in starker Verdünnung Zucker zu vergären, jedoch nur bei Gegenwart größerer Eiweißmengen. Die Wirkung der Eiweißstoffe ist vielleicht auf zwei Ursachen zurückzuführen. Erstens dürfte durch dieselbe die Zymase vor einem allzu raschen Angriff durch die proteolytischen Enzyme des Saftes geschützt werden; zweitens könnte die kolloidale Natur der Eiweißkörper dabei eine Rolle spielen.

Bei der Fällung von Preßsaft mit 10 Teilen Aceton erhält man Niederschläge, welche den Alkoholätherfällungen vollkommen gleichwertig sind und ebenso wie diese manchmal höhere Gärkraft besitzen, als das entsprechende Quantum Preßsaft. Letzteres ist wohl so zu erklären, daß die proteolytischen Enzyme des Saftes durch

die angewendeten Fällungsmittel stärker geschädigt werden als die Zymase.

F. B. Ahrens hat eine Methode angegeben, durch Ausfrieren Hefepreßsaft zu konzentrieren (vergl. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 744). Verf. hat die Angaben nachgeprüft und die Gärkraft der erhaltenen konzentrierten Säfte quantitativ bestimmt. Die Methode ist in der Tat sehr zweckmäßig, um Preßsaft von starker Gärwirkung zu gewinnen. Es ist jedoch nicht nötig, von dem zuerst abgeschiedenen Eis abzapressen; vorteilhafter läßt man den Saft in einer guten Kältemischung in engen, hohen Glaszylindern vollständig erstarren und dann langsam, ohne die Flüssigkeit umzuschütteln, wieder auftauen. Man kann hierdurch den Preßsaft in zwei Schichten trennen, eine obere farblose, zymasearme Schicht und eine untere, intensiv gefärbte Zone von höherer Gärkraft als der ursprüngliche Saft aufwies.

R. Trommsdorff (vergl. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 82) hat gefunden, daß durch Alkoholäther gefällter Hefepreßsaft mit der Gramschen Färbung sich nicht wie Alkohol-dauerhefe schwarzblau, sondern nur rot färbt. Er zieht daraus den Schluß, daß die Eiweißstoffe der Hefe wohl nicht unverändert in den Preßsaft übergehen, wie R. und W. Albert vermutet haben (vergl. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 737).

Verf. schien es nicht wahrscheinlich, daß die Eiweißstoffe der Hefe durch bloßes Zerreiben und Auspressen bereits eine tiefergreifende Veränderung erleiden sollten. Viel näher lag die Vermutung, daß die nach Gram sich schwarzblau färbenden Bestandteile der Hefe ungelöst in der Zelle vorhanden sind und demnach nicht in den Preßsaft übergehen können, sondern im rückständigen Preßkuchen verbleiben. Diese Annahme konnte als richtig erkannt werden: die zerrissenen Zellen des Preßkuchens färben sich nach Gram ebenso schön und ebenso dunkelblau wie die ursprüngliche Hefe.

H. Will (München).

Delezenne et Mouton, Sur la présence d'une érepsine dans les champignons basidiomycètes. (Comptes-rendus de l'Académie des Sciences de Paris. 9 mars 1903.)

Man kann aus gewissen zu den Basidiomyceten gehörenden Pilzen eine Diastase extrahieren, ähnlich derjenigen, die O. Cohnheim aus der Mucosa intestinalis der Säugetiere gewonnen hat und die er Erepsin benennt. Gleich diesem letzteren wirkt das oben erwähnte Ferment auf Pepton und Albumosen und verwandelt diese Stoffe in Zersetzungsprodukte, während es auf Albumin und Fibrin keine Wirkung ausübt.

Der Flüssigkeit, die man durch 3-stündiges Einweichen von 1 g pulverisierter *Amanita muscaria* in 20 ccm Wasser erhält, setzt man nach Filtration 0,50 g Magenpepton zu; diese Flüssigkeit bewirkt in 4—5 Tagen ein vollständiges Verschwinden der Biuretreaktion in der Mischung. Die Verff. haben sich von dem Verschwinden des Peptons überzeugt, nicht allein mit Hilfe der gefärbten Reaktion, sondern außerdem noch durch Dosierung

der Stickstoffmenge, die sich in verschiedener Form in dem Gemisch von Pilz und Pepton findet, und sie konstatieren, daß man es tatsächlich mit einer Zersetzung dieser letzteren Substanz zu tun hat.

Aehnliche Ergebnisse sind mit *Amanita citrina*, *Psalliotota campestris* und *Hypholoma fasciculare* u. a. erzielt worden.
J. Beauverie (Lyon).

Gillet, Charles, Existe-t-il une lipase dans le lait? (Journ. de physiol. et de pathol. générale. V, 3. 1903. p. 503—518.)

Diese Abhandlung ist die Fortsetzung einer früheren Arbeit über das oxydierende Ferment der Milch; sie will untersuchen, ob Milch ein verseifendes Ferment (Lipase) enthält oder ob die fermentative Wirkung dem Vorhandensein von Mikroorganismen zuzuschreiben ist. Die Milch wird unter allen Kautelen der Asepsis aufgefangen, man gießt dann 1 ccm in 10 ccm 1-proz. Monobutyrolösung. Die zur Neutralisierung verwandte alkalische Lösung ist die wässrige Zweihundertstelnormalnatronlösung. Man arbeitet bei $+40^{\circ}$ C. Zahlreiche Experimente ergeben, daß sowohl die aseptisch wie die nicht aseptisch behandelte Milch fast die gleiche verseifende Wirksamkeit aufweist und daß die Mikroorganismen keinen Anteil an der Verdoppelung des Monobutyrols haben. Geht man gleich nach dem Melken vor, so vermeidet man die Entwicklung der Mikroorganismen, die eine zu starke Acidität bewirken, was die verseifende Kraft zerstören kann.

Die Milch zersetzt also das Monobutyrol in Buttersäure und Glycerin, und zwar mittels eines Körpers, der folgende Eigenschaften in sich vereinigt: Er wird bei $+65^{\circ}$ C zerstört, widersteht aber der Kälte; Antiseptika und Zersetzungsprodukte bringen seine Reaktionsfähigkeit zum Stillstand, ohne sie zu vernichten; dieser Körper ist nicht dialysierbar und passiert keine Filtrierkerzen. Er reagiert in Abwesenheit von Sauerstoff. Man kann ihn durch Alkohol fällen und der mit Wasser aufgenommene Niederschlag ergibt eine auf Monobutyrol einwirkende Flüssigkeit. Dieses Ferment wirkt nicht auf die natürlichen neutralen Fettkörper; es ist also kein allgemeines verseifendes Ferment (Lipase), sondern ein Ferment des Monobutyrols (Monobutyrase). Es findet sich im Colostrum, in der Kuh-, Esels- und Ziegenmilch. Die Milcharten enthalten Fermente, die ihnen gemeinsam sind, und andere, die je nach den Tiergattungen verschieden sind. Unter diesen Fermenten gibt es solche, die indirekt oxydierend wirken und deren Farbreaktionen unabhängig sind von dem Vorhandensein oder dem Fehlen der anderen Fermente; es gibt auch Diastasen und verseifende Fermente, die eine gesonderte und individuelle Wirksamkeit haben. Diese Fermente scheinen bestimmt zu sein, die ungenügende Wirksamkeit der Fermente des Verdauungskanales bei Neugeborenen zu kompensieren.

Bei dieser Gelegenheit führt der Verf. die Erklärungen von Marfan, Escherich und Zweifel an und zieht eine Parallele zwischen den sogenannten schwachen und starken Milcharten, die

arm oder reich an indirektem oxydierenden Ferment sind (Anaëroxydase).

Ein kurzer Anhang faßt die Untersuchungen über die Wirkung steigender Alkalimengen auf die Milch bei Vorhandensein von Monobutyrin zusammen und zeigt, daß die Wirkung des verseifenden Ferments (Monobutyrase) unter diesen Bedingungen nicht erhöht wird.

Langeron (Paris).

Chiapella, A. R., Ricerche microbiologiche sull' olio di oliva. Firenze 1902.

Die außerordentlichen Verunreinigungen, die das Olivenöl bei seiner Darstellung erleidet, veranlaßten den Verf., seinen Gehalt an Mikroorganismen und die Entwicklungsfähigkeit pathogener Bakterien in ihm zu studieren. Die in jedem Oel sich vollziehende Selbstreinigung hält er für einen mechanischen, keinen chemischen Prozeß. Das vor dieser Selbstreinigung untersuchte Oel enthielt zahlreiche Schimmelpilze, Schizo- und Saccharomyceten (im ganzen 14 Gattungen mit 39 Arten) fast keine pathogenen Arten. Durch die Anwesenheit der Mikroorganismen ist vorwiegend die Haltbarkeit des Olivenöls gefährdet, was aber durch entsprechende Maßnahmen zu vermeiden ist. In Betreff der Lebensfähigkeit eingimpfter pathogener Pilze wurde folgendes festgestellt:

a) Nicht sporenbildende pathogene Mikroorganismen kann man noch nach 40–45 Tagen lebend und entwicklungsfähig finden, Kokken noch nach 50 Tagen, nur Choleravibrien gehen schnell zu Grunde.

b) Nach etwa der Hälfte der genannten Zeit bemerkt man im allgemeinen an allen untersuchten Keimen keine Veränderungen des Wachstums oder der biologischen Eigenschaften.

c) Ähnliches gilt für die auf natürlichem Wege ins Oel gelangten pathogenen Keime, wie das Verhalten von Staphylococcus albus und aureus in frisch fabriziertem Oel lehrt.

d) Die Resultate lassen es möglich erscheinen, daß dieselben Mikroorganismen, falls sie zusammengeballt oder in Hüllen (wie Sputum, Pseudomembranen, Schleim etc.) ins Oel gelangen, dort längere Zeit lebend und virulent bleiben.

e) Milzbrand hält sich im Oel monatelang ohne im geringsten in morphologischer oder biologischer Hinsicht oder an Virulenz einzubüßen.

Zum Schlusse bringt Verf. einige praktische Winke zur Behandlung des Oels.

K. Glaessner (Berlin).

Guéguen, F., Recherches anatomiques et biologiques sur le Gloeosporium phomoides Sacc. parasite de la Tomate. (Bull. de la Soc. mycologique de France. T. XVIII. 1902. p. 312–327. pl. XVI, XVII et 1 fig. dans le texte.)

Der Gloeosporium phomoides (= Sphaeronema Lycopersici Plowr.) ist in der Tat ein Parasit, wie die Inokulationsresultate ergeben; er ist ein sogenannter Wundenparasit. Wenn man ihn der Tomate inokuliert, so bewirkt er ein Brandigwerden des Fleisches, und sein sich in die Elemente des Parenchyms

einschiebendes Mycelium senkt daselbst Saugwerkzeuge ein, die bis zum Kerne vordringen, ihn zerstören und so den Tod der Zelle herbeiführen. Das Mycelium bringt Pycniden hervor, die entweder hervorbrechen oder sich im Gegenteil über das externe Stroma zerstreuen. Sie haben stark pigmentierte, sehr ungleich große Chlamydosporen. In Kulturen auf künstlichen Medien bekommt man auf Saft von gelatinierter Mohrrübe Augen, die von den auf Tomaten beobachteten Chlamydosporen sehr verschieden sind. Bei Kulturen auf festen Medien, besonders auf Mohrrübe, erzielt man leicht Pycniden; sie weichen von den auf natürlichen Medien erzeugten durch ihre größeren Dimensionen, die Höhe des Halses und die ausgeprägte Konfluenz ab. Dies zeigt den geringen Wert der unterscheidenden Erkennungszeichen, die auf Form und Umfang der Pycniden beruhen. Die Größe der Konidien bleibt dieselbe.

J. Beauverie (Lyon).

Ray, Julien, Etude biologique sur le parasitisme. *Ustilago maydis*. (Compt. rend. de l'Acad. des Sciences de Paris. 1903. 2 mars.)

Der Verf. sucht die physiologischen Beziehungen von Wirt und Gast zu bestimmen und den Anteil der verschiedenen bestimmenden Bedingungen des Parasitismus, indem er dieselben isoliert und abändert, festzusetzen.

Methoden. Es werden Reinkulturen des Parasiten in künstlichen Medien gemacht, die dann inokuliert werden. Man konstatiert alsdann bald die Erfolglosigkeit der Inokulation und untersucht, warum in diesem Falle der Pilz auf das Dasein eines Parasiten verzichtet und unter welchen Bedingungen er vom Saprophytismus zum Parasitismus zurückkehrt.

Resultate. a) Reinkulturen von Getreide-Brand- und -Rostarten. Von 30 Arten ergaben 9 Kulturen: Getreidebrand: Hafer, Mais, *Saponaria*, *Lychnis*; Getreiderost: Rosenstrauch, Spindelbaum, *Clematis*. Die Brandarten ergeben zuerst vorherrschend eine Hefeform; später wird die Mycelform vorherrschend. Unter anderem ergab der Rost am Rosenstrauch sehr zahlreiche, schwarze, mit Zwischenwänden versehene Sporen. Die benutzten Medien bestanden aus Bouillon, die aus den gesunden Wirten unter Zusatz von Gelose bereitet war, unter anderem bei 150° gekochte Mohrrübe, sterilisierte Milch etc.

b) Spezialuntersuchung von *Ustilago maydis*. Der Verf. kultiviert diesen Pilz seit 2 Jahren in sehr verschiedenen Medien. Nachdem derselbe vorherrschend eine Hefeform ergeben hatte, neigte er einer hyphomyceten Form zu. Inokulationen auf Maispflanzen waren mit der ersteren Form schwieriger als mit der zweiten. Diese nehmen überdies fast alle parasitären Intercellularpilze der Vegetabilien an.

Ernährung des Parasiten im Wirt. Der Parasit entzieht, ohne das Protoplasma zu zerstören, zu seinem Nutzen gewisse Substanzen, die vom Wirt absorbiert werden, bevor das Protoplasma desselben sie zu seinem eigenen Gebrauche hätte verwandeln können.

Wenn man Mais auf eine gezuckerte Lösung sät, so verwendet die Pflanze den Zucker mit Vorliebe als Reserve für ihre Körner; ihre Gewebe enthalten ein Uebermaß von Zucker, und der Pilz dringt in diesem Falle ungeheuer schnell ein.

Wahrscheinlich hat der Pilz eine diastatische Wirkung, die einen Teil der für den Wirt bestimmten Nahrung zerstört. Dieser leistet Widerstand durch Vermehrung seiner eigenen diastatischen Wirkung auf die absorbierten Stoffe.

Wenn man die Lebenstätigkeit des Wirtes durch Aetherdämpfe oder Hitze verlangsamt, so konstatiert man als Folge der Inokulation ein sehr schnelles und völliges Eindringen des Pilzes.

J. Beauverie (Lyon).

Klug, Anton, Der Hausschwamm, ein pathogener Parasit des menschlichen und tierischen Organismus, speziell seine Eigenschaft als Erreger von Krebsgeschwülsten. 139 p. Freiheit-Johannisbad (Selbstverlag) 1903.

Verf. unterzog während einer Ueberschwemmungsperiode im Riesengebirge eine große Anzahl von Erkrankungsfällen, wie Magengeschwür und Krebs der Speiseröhre, des Magens, der Leber und gewisse Erkrankungen des Nervensystems einer genauen Untersuchung. Es fand sich ein auffallender Zusammenhang der Erkrankungen mit der Anwesenheit von Hausschwamm, sodaß dem Verf. eine Infektion durch den Hausschwamm nahe lag. Er fand stets im Mageninhalt, dem Urin und Blut Sproßzellen, welche sich mit Eisenacetjodjodkaliumlösung charakteristisch färbten und welche er als Entwicklungsglieder des eingehend beschriebenen Hausschwammes, als Meruliocten, auffaßt. Dieselben charakteristischen Meruliocten fand Verf. in Krebstumoren und hält diese für Erreger des Krebses. Zum Beweise zieht er den Tierversuch heran. Das erprobte Infektionsmaterial bezog sich teils auf die im Mageninhalt gefundenen Sproßzellen, teils auf die Hausschwammsporen, teils endlich auf die aus verschiedenen Krebsgeschwülsten gezüchteten Pflanzenzellen. Verf. fand pathologische Veränderungen, die er sämtlich auf Rechnung der Infektion setzt; stets vermochte er Zellen nachzuweisen, die mit denen des Hausschwammes bzw. der Krebsgeschwülste identisch waren. Die durch die Infektion bedingten Krankheitserscheinungen sind in mancher Hinsicht verschieden, die Eventualitäten sind durch in- und außerhalb des Organismus gelegenen Momente (Disposition) bestimmt. Als Schutz gegen die Merulioctenerkrankung verlangt Verf. eine öftere Kontrollierung der öffentlichen Verkaufs- und Aufbewahrungsorte für Nahrungsmittel hinsichtlich der Anwesenheit von Hausschwamm, die Notwendigkeit einer genauen Untersuchung des Trinkwassers, hauptsächlich nach starken Regengüssen und Ueberschwemmungen, die Benutzung von Hausschwamm-freiem Material bei Neubauten, die strenge Forderung trockener Wohnungen. Verf. hat in der Kohlensäure und im schwefelsauren Chinin ein die Meruliocten energisch schädigendes Mittel gefunden, weshalb er es zwar nicht

zur Heilung eines vorgeschrittenen Krebstumors, so doch als ein gutes Prophylaktikum gegen Krebs bzw. Krebsrezidive nach Operationen empfiehlt. Verf. betont selbst, daß er in der Krebsforschung einen bisher von niemand geteilten Standpunkt einnimmt und daß die Schlußfolgerungen, zu denen ihn das diesbezügliche Studium brachte, außerhalb der gewohnten Ideenkreise liegen.

Maue (Berlin).

Lindroth, J. J., Verzeichnis der aus Finnland bekannten *Ramularia*-Arten. (Acta Soc. pro Fauna et Flora fennica. XXIII. 1902. No. 3. 42 pp.)

Nach einleitenden Bemerkungen und einem Bestimmungsschlüssel der finnischen *Ramularien* wird auf die Aufzählung und Beschreibungen der einzelnen Species eingegangen. Genannt werden:

- Ramularia Botrychii* nov. spec. auf *Botrychium Lunaria*.
- R. Sparganii* nov. spec. auf *Sparganium glomeratum*.
- R. (?) alnicola* Cke. auf *Alnus incana*.
- R. Urticae* Ces. auf *Urtica dioica*.
- R. pratensis* Sacc. auf *Rumex thyrsoides*.
- R. decipiens* Ell. et Ev. auf *Rumex hippolapathum*.
- R. Silenes* Karst. auf *Silene inflata*.
- R. Moehringiae* nov. spec. auf *Moehringia trinervia*.
- R. lapponica* nov. spec. auf *Ranunculus lapponicus*.
- R. acris* nov. spec. auf *Ranunculus acris*.
- R. gibba* Fuck. auf *Ranunculus repens*.
- R. Calthae* nov. spec. auf *Caltha palustris*.
- R. Trollii* (Jacq.) Lindr. (syn. *Didymaria Trollii* Jacq.) auf *Trollius europaeus*.
- R. Barbareae* Peck auf *Barbarea stricta*.
- R. Armoraciae* Fuck. auf *Nasturtium Armoracia*.
- R. Buniadis* Vesterg. auf *Bunias orientalis*.
- R. lactea* (Desm.) Sacc. auf mehreren *Viola*-Arten.
- R. agrestis* Sacc. auf *Viola tricolor* und var. *arvensis*.
- R. Malvae* Fuck. auf *Malva Alcea*.
- R. Geranii* (West.) Fuck. auf *Geranium pusillum*.
- R. Geranii-silvatici* Vesterg. auf *Geranium silvaticum*.
- R. Polygalae* (Schroet.) Sacc. et Syd. auf *Polygala amara*.
- R. Heraclei* (Oud.) Sacc. auf *Heracleum sibiricum*.
- R. Cicutae* Karst. auf *Cicuta virosa*.
- R. Archangelicae* nov. spec. auf *Archangelica officinalis*.
- R. Vestergreniana* Allesch. auf *Levisticum officinale*.
- R. Saxifragae* Syd. auf *Saxifraga granulata*.
- R. montana* Speg. auf *Epilobium angustifolium*.
- R. Epilobii-parviflori* nov. spec. auf *Epilobium parviflorum*.
- R. Hornemanni* nov. spec. auf *Epilobium Hornemanni*.
- R. arvensis* Sacc. auf vielen *Potentilla*-Arten.
- R. anserina* Allesch. auf *Potentilla anserina*.
- R. Gei* (Eliass.) Lindr. (syn. *Ovularia Gei* Eliass.) auf *Geum rivale*, *strictum*, *urbanum*.
- R. Tulasnei* Sacc. auf *Fragaria elatior*.
- R. Schulzeri* Bäuml. auf *Lotus corniculatus*.
- R. Lysimachiae* Thuem. auf *Lysimachia vulgaris*.
- R. Lysimachiarum* nov. spec. auf *Lysimachia Nummularia*.
- R. Primulae* Thuem. auf *Primula officinalis*.
- R. cylindroides* Sacc. auf *Pulmonaria officinalis*.
- R. Cynoglossi* nov. spec. auf *Cynoglossum officinale*.
- R. Anchusae-officinalis* Eliass. auf *Anchusa officinalis*.
- R. variabilis* Fuck. auf mehreren *Verbascum*-Arten.

- R. coccinea* (Fuck.) Vestergr. auf *Veronica officinalis*.
R. pseudococcinea nov. spec. auf *Veronica chamaedrys*.
R. pygmaea n. spec. auf *Veronica serpyllifolia*.
R. Anagallidis nov. spec. auf *Veronica Anagallis*.
R. obducens Thuem. auf *Pedicularis palustris*.
R. filiformis nov. spec. auf *Pedicularis silvatica*.
R. calcea (Desm.) Ces. auf *Glechoma hederacea*.
R. lamiicola C. Mass. auf *Lamium album*.
R. Ajugae (Niesl) Sacc. auf *Ajuga reptans*.
R. Adoxae (Rabh.) Karst. auf *Adoxa Moschatellina*.
R. macrospora Fres. auf *Campanula glomerata*.
R. macrospora var. nov. major auf *Campanula rapunculoides*.
R. Campanulae-latifoliae Allesch. auf *Campanula latifolia*.
R. Valerianae (Speg.) Sacc. auf *Valeriana officinalis*.
R. Tricherae nov. spec. auf *Trichera arvensis*.
R. Succisae Sacc. auf *Succisa pratensis*.
R. Cardui Karst. auf *Carduus crispus*.
R. picridicola nov. spec. auf *Picris hieracioides*.
R. Lampsanae (Desm.) Sacc. auf *Lampsana communis*.
R. Taraxaci Karst. auf *Taraxacum officinale*.
R. filaris Fres. var. *Lappae* Bres. auf *Lappa minor, tomentosa*.
R. Rhei Allesch. auf *Rheum spec.*

H. Sydow (Berlin).

Rick, Josef, Zur Pilzkunde Vorarlbergs. V. (Oesterreichische botanische Zeitung. Jahrg. LIII. 1903 No. 4. Wien. 8°. p. 159—164. Mit 1 Textabbildung.)

Eine Fortsetzung der mykologischen Beiträge aus Vorarlberg. (Die letzte erschien 1899 in der obigen Zeitschrift.) Berücksichtigt werden hier nur Phykomyceten und Ascomyceten. Mit lateinischer Diagnose wird eine neue Art beschrieben: *Dilophia Semper-vivi* Rick. Ausführlicher wird *Rickia Wasmanni* Cav. in morphologischer und biologischer Hinsicht beschrieben. Bisher ist dieser interessante Pilz zu Linz a. Rh., Luxemburg, Berncastel, und Feldkirch auf lebenden Exemplaren der Ameisenart *Myrmica laevinodis* Nyl. gefunden. Die Fundorte zeigen, daß der Pilz sicher recht verbreitet ist. Unter der Lupe macht der Pilz den Eindruck kleiner glänzender Glasstäbchen, bei stärkerer Vergrößerung zeigt er sich als traubenartiges Gebilde mit Stiel und reicher Verzweigung. Die letztere kommt zustande durch flaschenförmige, einzellige, männliche Sexualzellen, dazwischen abwechselnd mit je einem solchen Antheridium, eingefügte sterile Anhängsel von ähnlicher Form und durch ein an der Spitze des ganzen Receptakulums aufsitzendes, wulstförmiges, gelatinöses, weibliches Organ (Trichogyn). Bei vollkommen reifen Exemplaren verschwindet das Trichogyn, es erscheint dann aber in exzentrischer Lage das Perithecium im Innern des Receptaculums. In diesem liegt der Schlauch mit mehreren spindelförmigen Sporen. Systematisch reiht sich *Rickia* zwischen *Peyritschia* einerseits und *Laboulbenia* andererseits ein. Die Tiere scheinen durch den Pilz gar nicht zu leiden; vielleicht liegt ein Fall von Symbiose vor. Die Abbildung zeigt uns diesen Pilz.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Camara Pestana, Jaño. [Bekämpfung des Rebenflohs (*Altica ampelophaga*) vermittelst des *Sporotrichum globuliferum*.] (Revista agronomica. Vol. I. 1903. p. 173.)

Verf. erhielt Reinkulturen des *Sporotrichum globuliferum*, sowie von dem Pilz befallene Exemplare des Rebenflohs aus dem Laboratorium für Pflanzenpathologie des Institut Pasteur in Algier. Die Weiterkultur geschah in Roux'schen Röhren auf Kartoffelschnitten, die während $\frac{1}{2}$ Stunde mit 6 Proz. Glycerinlösung getränkt und dann $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden bei 120° sterilisiert wurden. Die Pilze entwickeln sich gut bei 22°—24°, werden auf Kartoffelschnitten in Petri-Schale vermehrt und auf Verlangen den Weinbauern durch die Post übersandt.

Zur Anwendung in der Praxis gräbt man an verschiedenen Stellen der Weinpflanzung Blechbüchsen (von Petroleum, Konserven etc.) ein, deren Deckel in der Mitte mit einem 2 cm weiten, 5—6 cm langen Röhrchen versehen ist. Auf den Boden der Büchse gibt man eine Schicht angefeuchteten Sandes von 6—8 cm, darauf die Kartoffelschnitte mit den *Sporotrichum*-Kulturen, einige Weinblätter und eine Anzahl Rebenflöhe und bedeckt mit dem Deckel. Nach 6—8 Tagen öffnet man, läßt die etwa noch lebenden Rebenflöhe hinaus und verbrennt die toten auf dem Felde. Die Prozedur wird so oft als nötig wiederholt.

Die Verbreitung des *Sporotrichum* geschieht sehr langsam, so daß erst nach 2—3jähriger Anwendung des Verfahrens wirkliche Erfolge erzielt werden.

H. Mastbaum (Lissabon).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Maggiore, R., Alcune prove con la recente modificazione del Gosio al suo metodo biochimico di ricerca dell'arsenico. (Bollettino della Società medica chirurgica di Modena. Anno V. Fasc. 1.)

Unter Anwendung der jüngsten, von Gosio für die Arsenikuntersuchung empfohlenen technischen Modifikationen (Ablagerung des arsenikhaltigen Materials in frischen Kulturen von *Penicillium brevicaulis* auf Kartoffeln nach Roux) hat Verf. mit 51 Arsenikpräparaten experimentiert und hierbei feststellen können, daß alle mit größerer oder geringerer Intensität und in einer längeren oder kürzeren Zeitperiode die biochemische Reaktion gegeben haben, auch bei Anwendung von sehr kleinen Quantitäten der betreffenden Substanz. Nach Verf. kann Gosio's Probe — innerhalb gewisser Grenzen — auch zur quantitativen Bestimmung von arsenikhaltigen Produkten verwertet werden. Wenngleich dieselbe insofern für diese letzteren keine spezifische ist, da auch die Verbindungen des Tellurs mit Arseneschimmel einen Knoblauchgeruch von sich geben, so wird doch in Anbetracht des seltenen Vorkommens dieses Metalloids der Wert der Reaktion dadurch nicht verringert. Die durch Selen bedingte Geruchsreaktion

kann wohl kaum zur Verwechslung mit jener der Arsenikpräparate Anlaß geben; andererseits sind die Verbindungen dieses Körpers ebenfalls recht seltene. Negri (Pavia).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Bastian, H. Charlton, On the origin of Bacteria and their allies by heterogenesis.

(Ann. and mag. of nat. hist. Vol. XII. Ser. 7. 1903. N. 70. p. 381—405. 2 Taf.)

Dietrich, A., Ueberblick über unsere Kenntnisse von der Morphologie und Biologie der Bakterien. Sammelreferat. (Ztschr. f. allg. Physiol. Bd. III. 1903. Heft 2. p. 23—75.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Cocconi, Girolamo, Osservazioni sullo sviluppo dell' Ustilago bromivora (Tul.)

Wint. Memoria. (Mem. d. R. Accad. d. sc. dell' istit. di Bologna. Ser. 5. T. X. 1903. Fasc. 2. p. 247—252. 1 Taf.)

Delle, Ed., La fermentation. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 73. p. 292; N. 75. p. 300.)

Dietel, P., Ueber die Teleutosporenform von Uredo laeviuscula D. et H. und über Melampsora D. et Neg. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. N. 5. p. 415—417.)

Fritsch, F. E., Two fungi parasitic on species of Tolypothrix (Reticularia nodosa Dang. and R. Brodlei n. sp.). (Ann. of Botany. Vol. XVII. 1903. N. 68. p. 649—664. 1 Taf.)

Heine, Zur Rinderfinnenfrage. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1903. Heft 1. p. 21—22.)

v. Höhnelt, Franz, Mykologische Fragmente. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. N. 5. p. 391—414.)

Kunstler, J., Notice sur les téguments des micro-organismes. (Arch. d'anat. microsc. T. VI. 1903. Fasc. 1. p. 73—82. 19 Fig.)

Kunstler, J. et Chainé, J., Notice sur le cryptococcus. (Arch. d'anat. microsc. T. VI. Fasc. 1. p. 83—85. 1 Fig.)

Maire, René, Dumée et Lutz, Prodrome d'une flore mycologique de la Corse (Bull. de la soc. bot. de France. T. XLIX. (Sér. 4. T. I.) 1901. (ersch. 1903.) p. CLXXIX—CCXVII. 2 Taf.)

Maire, R. et Saccardo, P. A., Sur un nouveau genre de Phacidiaées. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. N. 5. p. 417—419. 4 Fig.)

Massalongo, Caro, Novitates florae mycologicae veronensis. (Atti e mem. dell' Accad. d'agricolt., sc., lett., arti e commercio di Verona. Ser. 4. Vol. III. 1902—03. p. 81—164. 10 Taf.)

—, Le nostra cognizioni ai funghi della flora veronese al principio del XX secolo. (Atti e mem. dell' Accad. d'agricolt., sc., lett., arti e commercio di Verona. Ser. 4. Vol. III. 1902—03. p. 165—188.)

Maré, P. et Perrier, A., Sur la production de la mannite par les ferments des maladies des vins. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 9. p. 587—598.)

Nusbaum, Józef, Ueber die geschlechtlich heterogene Fortpflanzung einer im Darmkanale von Henlea leptodera Vejd. schmarotzende Gregarine — Schaudinnella henleae mih. (Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXV. 1903. Heft 2. p. 258—280. 1 Taf.)

Oppenheimer, Carl, Die Fermente und ihre Wirkungen. 2. neubearbeitete Aufl. Leipzig (Vogel) 1903. VIII. 439 p. 8°. 12 M.

Price, Marshall Langton, Occurrence of the Strongyloides intestinalis in the United States. (Journ. of the American med. assoc. Vol. XLI. 1903. N. 11. p. 651—655; N. 12. p. 713—718.)

R., Beitrag zur Zymase-Frage. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 39. p. 436.)

Rapp, R., Ueber den Einfluß des Lichtes auf organische Substanzen mit besonderer Berücksichtigung der Selbstreinigung der Flüsse. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1903. Heft 2. p. 179—205.)

- Rasteiro, J.**, Tratamento simultaneo do mildio e do oídio. Caldas cuprosulfuradas. (Revista Agronomica. Vol. I. 1903. p. 271—274.)
- Saccardo, P. A. e Traverso, G. B.**, Contribuzione alla flora micologica della Sardegna. (Ann. Mycologici. Vol. I. 1903. N. 5. p. 427—444. 1 Taf.)
- Sheldon, J. L.**, Cultures of Empusa. (Journ. of appl. microsc. a. laboratory methods. Vol. VI. 1903. p. 2212—2220. 2 Taf. u. 40 Fig.)
- Voss, W.**, Ueber Schnallen und Fusionen bei den Uredineen. (Ber. d. dtshn. bot. Ges. Bd. XXI. 1903. Heft 7. p. 366—371. 1 Taf.)
- Vuillemin, Paul**, Le syncephalis adunca sp. nov. et la série der Cornutae. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. N. 5. p. 420—427. 1 Taf.)
- Weiss, Fr.**, Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 38. p. 630—633.)
- Wolffhügel, K.**, Einige Worte zu Sturhans Artikel „Magenwurmsuche bei Enten“. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1903. Heft 1. p. 12—14.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen. Gebrauchsgegenstände.

Luft, Wasser, Boden.

- Ballner, Franz**, Weitere Beiträge zur Gerinnung von keimfreiem Trinkwasser durch Zusatz von Chlor und Brom. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1903. Heft 2. p. 140—178.)
- Barthel, Chr.**, Untersuchung über die Mikroorganismen in der Stallluft, in der frisch gemolkenen Milch und im Euter der Kuh. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 40. p. 626—628.)
- Muth, Franz**, Die Tätigkeit der Bakterien im Boden. Vortrag. Karlsruhe, Jahresaus 1903. 58 p. M. Fig. 1,20 M.
- Sestini**, La filtration de l'eau potable à bord des navires de guerre. Traduction abrégé par Santelli. (Arch. de méd. navale. 1903. N. 10. p. 280—284.)

Fleisch.

- Altschüler, E.**, Die Konservierung des Hackfleisches mit (neutralem) schwefligsaurem Natrium. (Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. 1903. Heft 2. p. 114—139.)

Milch, Molkerei.

- Ostertag**, Die sanitätspolizeiliche Regelung des Milchverkehrs. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1903. Heft 1. p. 1—5.)
- Ripper, Maximilian**, Eine rasche Methode zur Erkennung der Milch von kranken Tieren. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 40. p. 610—611. Dass. in Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIII. 1903. N. 40. p. 471—472.)

Bier, Brauerei.

- Bommel, W.**, Justs Kasein — angeblich ein neues Klärmittel für Bier. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 40. p. 456—457.)
- Wiegmann**, Schlechte Gärbottiche — die Ursache von wilder Hefen-Infektion. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 39. p. 437.)

Wein, Weinbereitung.

- Canu, G.**, Le pressurage. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 73. p. 291—292.)
- Desmoulins, A. M.**, Traitements de la vendange altérée. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 72. p. 287—288.)
- , Cuvage et décuvage de la vendange. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 74. p. 295—296.)
- , L'ouillage des vins et l'emploi de l'acide carbonique liquide. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 76. p. 304.)
- , La vinification par les levures et les ampélosides. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 77. p. 308.)
- Guiraud, D.**, Le traitement des maladies du raisin. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 74. p. 296.)
- La glycérine dans les vins. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 76. p. 305.)
- P.**, Das Stummachen von Most für den Transport. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 38. p. 379—380.)

F., Die Mostkonservierung durch Sterilisieren. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 39. p. 389—390.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Marchetti, Gino Ettore, L'olivo nella riviera veronese del Garda. (Atti e mem. dell' Accad. d'agricolt., sc., lett., arti e commercio di Verona. Ser. 4. Vol. III. 1902—1903. p. 385—432.) [Enth. n. a. Parasiten der Olive.]

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Hennings, P., Weniger bekannte Schwämme, die in Gebäuden eine Zerstörung des Bauholzes verursachen. (Centralbl. d. Bauverwaltg. Hrsg. im Minister. d. öff. Arb. Berlin. Bd. XXIII. 1903. N. 39. p. 243—244.)

Kausch, Vorrichtungen zur Sterilisation mittels Wasserdampfes. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. 1903. N. 25. p. 785—791. 19 Fig.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Posch, K., Kampfbüchlein gegen die Peronosporakrankheit des Weinstockes. — Die Ursachen, Folgen und Lehren der in dem Jahre 1902 aufgetretenen Peronospora-epidemie. (Magyar. Botan. Lapok. Vol. II. 1903. p. 166.)

Thom, Charles, A gall upon a mushroom. (The bot. Gaz. Vol. XXXVI. 1903. N. 3. p. 223—225. 4 Fig.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Adler, Oscar, Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern, p. 215.

Christensen, Harald R., Zwei neue fluoreszierende Denitrifikationsbakterien, p. 190.

Lux, Arthur, Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien, p. 195.

Omeliński, W., Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben, p. 177.

Osterwalder, A., Gloeosporium-Fäule bei Kirschen, p. 225.

Ruata, Guido Q., Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer, p. 220.

Sewerin, S. A., Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart, p. 202.

Troili-Petersson, Gerda, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. (Schluß), p. 207.

Referate.

Chiapella, A. R., Ricerche microbiologiche sull' olio di oliva, p. 232.

Delexenne et Mouton, Sur la présence d'une érepsine dans les champignons basidiomycètes, p. 230.

Gillet, Charles, Existe-t-il une lipase dans le lait? p. 231.

Guéguen, F., Recherches anatomiques et biologiques sur le Gloeosporium

phomoides Sacc. parasite de la Tomate, p. 232.

Herzog, R., Zur Biologie der Hefe, p. 228.

Klug, Anton, Der Hausschwamm, ein pathogener Parasit des menschlichen und tierischen Organismus, speziell seine Eigenschaft als Erreger von Krebsgeschwülsten, p. 234.

Lindroth, J. J., Verzeichnis der aus Finnland bekannten Ramularia-Arten, p. 235.

Meisenheimer, Jakob, Neue Versuche mit Hefepreßsaft, p. 229.

Miquel, P. et Cambier, R., Traité de bactériologie pure et appliquée à la médecine et à l'hygiène, p. 227.

Ray, Julien, Etude biologique sur le parasitisme. Ustilago maydis, p. 233.

Rick, Josef, Zur Pilzkunde Vorarlbergs, p. 236.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Camara Pestana, João, Bekämpfung des Rebenflohs (Altica ampelophaga) vermittelst des Sporotrichum globuliferum, p. 237.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Maggiore, R., Alcune prove con la recente modificazione Gosio al suo metodo biochimico di ricerca dell' arsenico, p. 237.

Neue Litteratur, p. 238.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U.S.A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 L
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 19. Dezember 1903.

No. 8/9.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

On the discovery of cilia in the genus Bacterium.

By David Ellis, Ph. D. (Marburg), B. Sc. (London).

Mit 7 figures.

In a former publication (Der Nachweis der Geißeln bei allen Coccaceen. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902) I was able to prove that, not only the genera Planosarcina and Planococcus among the Coccaceae, but also the remaining genera Sarcina, Micrococcus and Streptococcus, hitherto supposed to be immotile, possessed organs of motion in the form of cilia. I was led to this discovery, by observing that in the case of a motile organism like *Spirillum volutans* (Ehrenberg),

Zweite Abt. Bd. XI.

16

the effect of continually transferring it, on to a fresh medium, as soon as growth was perceptible, gradually increased the average velocity of the individuals, to such an extent that in some cases, scarcely a moment had elapsed between the appearance and disappearance of an individual as it crossed the field of vision of the microscope. This is probably due to the fact that in our artificial media, much slime is often developed, which hinders motion, but which however can be hindered by continual inoculation. When this method was applied to those genera of the Coccaceae, which up to then, had been considered immotile, it was found that the individuals, hitherto packed together, fell apart and became motile. The demonstration of the organs of movement is given in the above mentioned article. All the members of the family Coccaceae therefore, are either actively or potentially, motile organisms, the inactive condition being probably induced by our artificial cultures, which whilst having no effect on some organisms, seem to retard the movement of others by causing them to develop slime.

Seeing that the round forms are either motile or potentially motile I was naturally led to investigate whether a similar state of affairs held good for the cylindrical forms. Migula's classification (Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. Heft 1. 1894) which is undoubtedly the best which we have up to the present, arranges these forms under the family Bacteriaceae and subdivides as follows:

- 1) Gattung *Bacterium*.
Zellen ohne Bewegungsorgane, oft mit Endosporenbildung.
- 2) Gattung *Bacillus*.
Zellen mit über den ganzen Körper angehefteten Bewegungsorganen, oft mit Endosporenbildung.
- 3) Gattung *Pseudomonas*.
Zellen mit Bewegungsorganen. Endosporenbildung kommt bei einigen Arten vor, ist aber selten.

It is thus seen that of the 3 genera, the genus *Bacterium* bases its existence on the fact that its individuals do not possess organs of movement. It is the object of this investigation to prove that as in the family Coccaceae, so also in the family Bacteriaceae, all the individuals in the genus *Bacterium* are motile and possess organs of motion in the form of cilia.

The species which have been examined are the following: *Bacterium hirtum* (Henrici), *Bacterium tomentosum* (Henrici), *Bacterium filamentosum* (E. Klein) Burchard, *Bacterium rugosum* (Henrici), *Bacterium cervinum* (Henrici). Of these the first two and the last two were obtained from Herrn Docent Král of Prag. They were received by him, direct from the Technische Hochschule of Karlsruhe, where they were isolated. The third (*Bact. filamentosum*) was kindly supplied to me by Dr. Macfadyan, Director of the Lister (Jenner) Institute. These 5 species were chosen because they were the only ones obtainable, so that no attempt has been made to seek out forms which were not typical of the genus.

Cultures employed.

Throughout the investigation it was not found necessary to employ, other than 3 cultures which I designate "Ordinary-agar", "Spirillum-agar", "Peptone-beef broth".

Ordinary-agar was made in the following manner 1 lb beef was mixed with 1 litre H_2O ¹). Boiled, and filtered. 1 % Peptone + $\frac{1}{2}$ % NaCl added. Dissolved, made faintly alkaline, filtered and sterilized in the usual way.

Spirillum-agar. Made according to Meyer's modification of Zettnow's Spirillenagar, for which see my previous publication p. 35.

Peptone-beef broth was made from the same constituents as Ordinary-agar, but without the addition of agar.

(*Bacterium hirtum* Henrici).

(*Pseudomonas hirtum* Ellis.)

This organism was found by Henrici, in Münster cheese, and is fully described by him in the Arbeiten aus dem bakt. Institut der techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. 1894. Heft 1. p. 44. The superficial observations which I have made on this organism tally with the description given by Henrici, so I had no doubt as to the identity of the species. When the original culture, as received from Prag, was examined, it was found, as was the case with the Sarcineae, that the majority of the individuals were quite motionless, but that one or two here and there were distinctly motile, exhibiting not so much a forward movement, but rather a slight swinging in which one end seemed to act as a fulcrum. One side would be very slightly convex, and a few seconds afterwards very slightly concave, seeming as if a pull was being exerted from one of the ends. The first attempts at continual inoculation were disappointing.

Ordinary-agar cultures were employed, but contrary to expectation, growth became less rapid, so I was soon compelled to give up this method of culture. Starting again from the original culture, I inoculated into the Peptone-beef broth, and every 24 hours transferred the organism into fresh material of the same kind. When I had done this for a week, I found movement in a larger number of individuals. From this last culture, the organism was transferred on to Spirillum-agar with excellent results so far as the well being of the organism was concerned. In 2 days there was abundant spore formation. From now on, Broth and Spirillum-agar cultures were examined in all stages, and at various times, cilia-preparations were made. I was not able to cause universal movement in any particular culture, at any rate such movement as one could with certainty discriminate from molecular movements, but in every field seen in the microscope, there were invariably several individuals, which were unmistakably motile e. g. in a 5 days old broth culture, some individuals moved at the rate of $1-2 \mu$ per sec, others at a smaller rate, whilst the greater num-

1) Enough Agar was added so as to make the culture just solid.

ber had only a very active trembling motion. Again in certain *Spirillum*-agar cultures in which spores were present, sometimes it happened that the spores were perfectly motionless, whilst the individuals which had not formed spores exhibited the usual trembling movement. I cannot but think that in these cases, the forces causing molecular movement were inactive, otherwise the spores would not be perfectly motionless, and that the movement possessed by the asporogenous individuals were due to the active influence of cilia.

After several failures, successful cilia-preparations were made on 2 days old *Spirillum*-agar cultures, as follows:

Fixing 4 mins at 37° C.

Mordant 5 mins at temp. of room.

Stain 8—9 mins at temp. of room.

(The exact mode of procedure is given below.)

It is useless to attempt cilia-preparations from the usual liquid cultures, for there is always a deposit of extraneous matter formed, which besides becoming deeply coloured itself, seems to exert an injurious influence on the cilia, causing them to swell and disappear. I append a few examples of the results of my cilia-preparations.

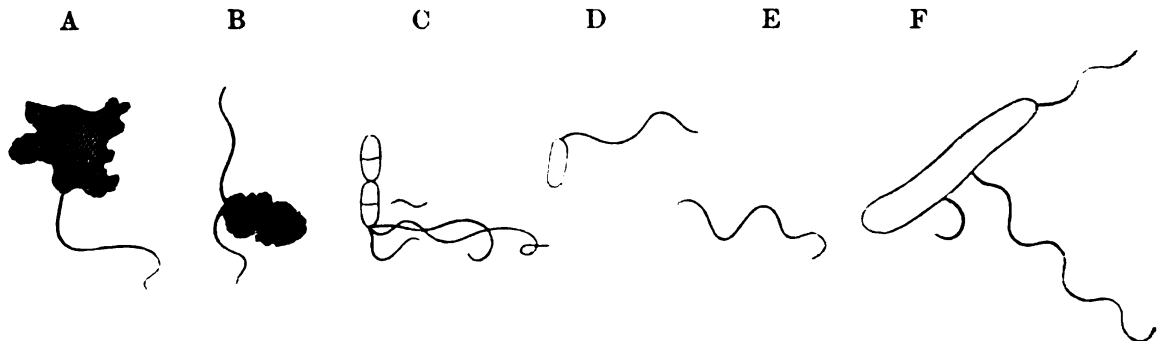


Fig. 1.

It is seen that all except *F* have polar cilia. As the others which were observed were also polar, it is highly probable, that the long cilium projecting from the side of *F*, has been misplaced during the process of preparation, and that the possession of polar cilia can be definitely assigned to this organism. *A*, *B* and *E* are interesting, because they show that in this case, the cilia are more resistant than the body of the cell, for in *A* and *B* the latter is shapeless, and swollen, whilst in *E*, the body of the cell has entirely disappeared. The form of the cilia, is characteristic of the genus *Pseudomonas* in which there is a greater tendency, to throw the cilia into a larger number of "waves" than is the case in the genus *Bacillus*. This however cannot be accepted as a generic characteristic, but the location of the cilia at the poles, leaves no doubt as to its inclusion in the genus *Pseudomonas*.

Bacterium tomentosum (Henrici).

(*Pseudomonas tomentosum* Ellis.)

This organism found in Schweizerkäse by Henrici, grows

quickly and provided serviceable material for this investigation. A superficial examination showed that there was no doubt as to identity of the species. It forms a good test-case for movement because it has a tendency to form chains of cells, as well as single individuals in the 3 cultures which were employed. The method of continual inoculation did not answer very well with this organism, but still it was sufficient to produce sufficient motility to convince me of its existence, especially when I diluted the Agar so much that if I shook the tube, it tumbled down the bottom. This supplied a culture from which cilia-preparations could be made, and at the same time possessed very nearly, the advantages of a liquid culture. The *Spirillum*-agar was the best for the purpose because on it, no spores were formed as was the case on Ordinary-agar.

A illustrates one kind of movement in which one end remains fixed whilst the other very slowly oscillates to and fro.

B illustrates the same kind of movement in the case of 2 adhering individuals.



Fig. 2.

Two individuals exhibiting this oscillatory motion and separated from each other by a distance of $2\ \mu$, were examined for about $\frac{1}{2}$ min. in which time the distance between them had increased to about $20\ \mu$, so that forward movement was also shown. Again in fairly large cells, or in a small chain consisting of 3 or 4 cells, a wave of motion was several times observed, each cell slowly undulating in turn and the wave passing from end to end. In liquid cultures these movements were still more distinct so having no doubt as to the existence of motion, several cilia-preparations were made. The best results were obtained from 1-day old *Spirillum*-agar cultures in the following manner:

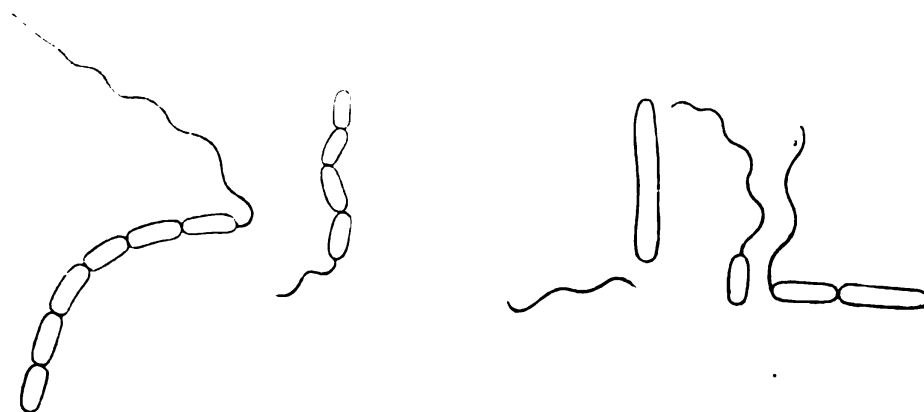


Fig. 3.

Fixing 4 mins at 37° C.

Mordant 15 mins.

Stain 7 mins at temp. of room.

The following figures illustrate some of the cilia which were observed.

The cilia, as is seen, are polar. Most were monotrich, but some possessed 2. The species manifestly belongs to the genus *Pseudomonas*.

Bacterium filamentosum (E. Klein) Burchard.

(*Pseudomonas filamentosum* Ellis.)

This form was found by E. Klein and named *Bacillus filamentosus*, on account of its cylindrical form, and not on account of its motility, for it is only in Migula's classification, that this term is employed for those forms which possess peritrich cilia as well as a cylindrical form. When Burchard, described this form, the name was changed to *Bacterium filamentosum* on account of its supposed absence of motion. I had every reason to believe that this species, which was found among the stock of cultures belonging to the Lister Institute was the same as that examined by Burchard. It grew equally well on Ordinary-Agar and on Spirillum-agar and after several inoculations, some individuals exhibited movements inconsistent with molecular movements. As first only long filaments were to be seen, but after 5—6 inoculations, some were broken up so that several single cells and short filaments of 2—3 cells were formed. Universal separation of the individuals of the filaments was unfortunately impossible by this method, so that motion was only observed in a few, viz the isolated individuals. As in the 2 species described above, the chief movement consisted of a bending of the body of the cell, each side becoming alternately convex and concave, the movement taking place slowly about 10—12 seconds for one complete oscillation. A distinct forward movement was not seen in this species, though some doubtful cases were observed. Repeated inoculations produced no further effect on the movement, so I was compelled to make cilia-preparations with only these slight results.

The method by which the best results were obtained, was the following:

Fixing 3—8 mins at 37° C.

Mordant 6—7 mins.

Stain 8—9 mins at temp. of room.

It was noticeable, that the number of individuals which possessed cilia, was far greater than the number in which motion was exhibited, indicating that many of the non motile individuals possess cilia, but are not able to cause them to fulfil their functions, probably owing to the artificial conditions of culture. I have not the slightest doubt, that were this species sufficiently examined as to the conditions of culture, it would ultimately be found that under very favorable circumstances, cilia would be developed, capable of causing universal movement among the individuals. It

is extremely probable that in nature this form is actively motile. The short time at my disposal did not allow of my going deeper into this question. The diagrams here given, show some of the ciliated individuals.

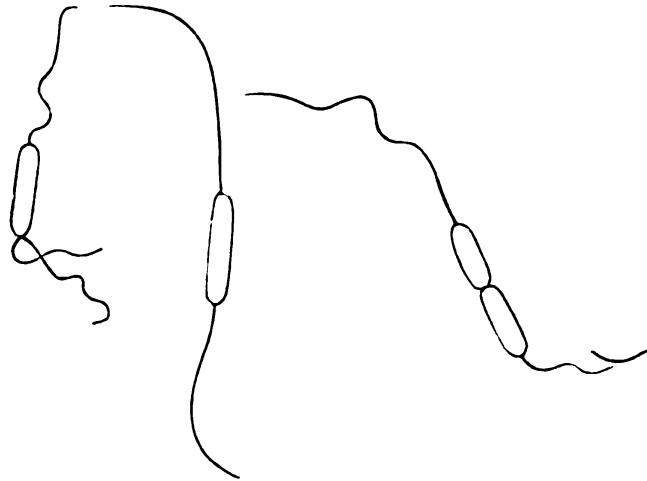


Fig. 4.

Bacterium rugosum (Henrici).
(*Bacillus rugosus* Ellis.)

A full description of this species is given in the *Arbeiten aus dem bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe*. Bd. I. 1894. Heft 1. p. 43.

The original culture consisted of individuals matted together in comparatively large numbers and absolutely motionless. After several inoculations I was unable to produce any appreciable results, but ultimately managed it in the following manner. The organism was inoculated into peptone-beef-broth, in which as a result the liquid became turbid after 24 hours. A few more inoculations into the broth after intervals of 24 hours produced the required result, the individuals being more isolated and exhibiting slight movements. In one case where 5—6 individuals were attached together, the whole seemed to be jerked by a force located at one of the ends, though it did not seem sufficient to cause a forward movement. The jerk caused a wave to pass from end to end, two of the individuals would arch themselves to form a ridge, and a second afterwards at the same part a trough would be formed. The isolated individuals in many cases possessed a distinct forward movement. A *Spirillum*-agar tube was next inoculated from this culture and from now on, movement was always observed when reinoculated, so that cilia-preparations were made. The following method gave the best results.

Fixing 4 mins at 37° C.

Mordant 5 mins.

Stain 8 mins at temp. of room.

The movement above described indicates that the cilia would be expected to be polar. The majority certainly were polar, but several were observed in which they were peritrich. (See *D* and *E*.) Personally I am inclined to think that when several individuals form a short chain polar cilia are the first to be developed, but that when they are completely isolated peritrich cilia may sub-

sequently be formed. We have no a priori reasons for stating that a particular form must have either polar or peritrich cilia, and though the bacteria hitherto examined have been relegated either to one or the other form of ciliation, it must be stated that this particular question has not been sufficiently investigated, and the nature of the operation is too delicate, to make at the present moment a definite assertion with regard to this question. In the appended figures *A*, *B* and *C* are polar, whilst *D* and *E* are peritrich, and I had no reason for believing that the culture was not pure. A further investigation of this question is necessary as it has an important bearing on our conceptions of the morphological nature of bacterial cells. For the purposes of this investigation however, it was sufficient to demonstrate that organs of motion in the form of cilia are present, and for the present I propose relegating this form to the genus *Bacillus*.

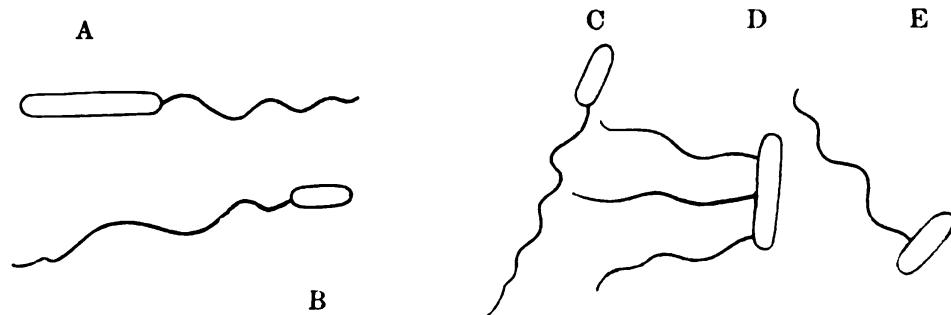


Fig. 5.

Bacterium cerinum (Henrici).
(*Pseudomonas cerinum* Ellis.)

This form also is described in the *Arbeiten aus dem bakt. Instit. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe*. Bd. I. 1894. Heft 1. The average small size of the cells, the rapid rate of growth etc., make the species somewhat more easily recognizable than most forms, so I was soon able to convince myself that I was really investigating the same species as that described by Henrici. The smallness of the cells however, made its investigation more difficult than the preceding forms, and in addition they seemed to cling together very tenaciously. In the original culture, only large masses, composed of many cells which were absolutely motionless, could be observed. For almost a month continual inoculation into Ordinary-agar, *Spirillum*-agar and Peptone-beef-broth failed to produce the desired result, but ultimately small groups began to be formed and occasionally even isolated individuals. The latter were certainly motile, and often where a group was not too large, a few movements inconsistent with Brownian movements were seen, which led me to make cilia-preparations. On closely observing the isolated cells, just as in the preceding forms, so here the cells were observed to bend their bodies and in addition exhibited a slight forward motion.

The cilia-preparation was extremely difficult and I was only

able to obtain one preparation showing cilia. The following method was employed:

Fixing 4 mins at 37° C.

Mordant 5 mins.

Stain 7 mins at temp. of room.

The 2 figures given below illustrate the ciliation.

The ciliation is very probably that characteristic of the genus *Pseudomonas*, and is monotrich.

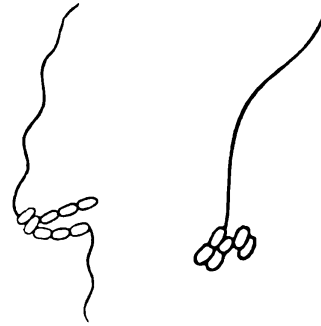


Fig. 6.

The exact method of procedure to produce successful cilia-preparations.

As in cilia-preparations so much depends upon the small details, without attention to which, these preparations are almost invariably unsuccessful I propose giving the *modus operandi* in full, which in 19 cases out of 20, has supplied me with successful preparations. I am indebted to Prof. Arthur Meyer for the principle of the method, which is in use in his laboratory; the smaller details which are so essential to success have been supplied by myself.

Upon an absolutely clean glass-slide 3 small drops of water are placed. A portion of the material to be experimented on, is removed with a platinum loop from a solid culture and so much is placed in the first drop till the latter is very slightly turbid. The platinum-loop is then passed through the flame until the excess material is burned away. After the platinum has cooled, a portion from the first drop is transferred by it, into the second drop, thus securing the first dilution. Next a portion from the second drop is transferred to the third drop, this being necessarily still more diluted and containing still less of stainable material other than bacteria, which so often spoils the preparation. This process of transference must take place in comparatively rapid succession, before much evaporation takes place, for the change of concentration consequent on evaporation if too rapid, causes molecular disturbances which very often throw off the cilia. Next a couple of absolutely clean coverslips are placed, each in the jaws of a cornette-pincers and upon them a portion from the third drop is smeared by means of a clean platinum wire. This is the most important part of the operation.

The best results are obtained by bending the wire about 3 mm from the end, at right angles to the rest of the wire as in figure.

The bent end is dipped into the third drop and smeared on the surface of the coverslip. It is absolutely necessary that the smeared liquid should not roll itself together as happens if the



Fig. 7.

coverslip be not absolutely clean. In this way 3 smears may be made on one coverslip. I generally allow a slightly larger amount of the liquid at the end of each smear, because I have often found cilia at these parts, which in the rest of the smear were wanting, the reason probably being that the change of concentration of the liquid during evaporation is here less rapid, so that the cilia are less liable to be thrown off. The coverslip is now placed in an incubator at 37° C for about 4 minutes in order to fix the bacteria. After fixation, the mordant is filtered, the coverslip replaced in the cornette-pincers and its surface covered with this fluid. The time for the mordant to act on the bacteria is about 4—6 minutes for most bacilli, 3½—4½ minutes for more delicate organisms like *Spirillum volutans* and 6—7 minutes for the *Sarcinae*. The mordant is then washed off by allowing a small stream from a tap to flow upon the coverslip and before it dries up the stain is placed upon it. The stain is allowed to act for 5 minutes at the temperature of the room, or a small flame may be placed under the coverslip and just enough heat applied till vapour begins to form, in which case 3 minutes are enough. The coverslip is now washed, dried in the incubator (37° C) and examined in Xylol, or placed directly in Canadabalsam, if it be wished to preserve the preparation. The only variable parts of this method are the times required by the mordant and the stain, but experience will soon show in which direction these are to be modified.

The mordant viz Loeffler's Fuchsin Tinte is made as follows:

- 10 ccm of a 20 % solution of Tannin,
- 8 " cold saturated FeSO₄,
- 1 " of a solution composed of Fuchsin saturated in absolute alcohol.

The best stain for the purpose is one devised by Meyer consisting of

- 1 gramm Säureviolett (Grübler & Co. 6 B),
- 75 ccm absol. alcohol,
- 75 " water.

Or instead of the Säureviolett, the same quantity of Fuchsin may be used.

General remarks.

It is evident, that since in the division of *Bacteria*, the possession or non-possession of cilia, plays an important rôle, we must reconsider our basis of classification. I have already pointed out in this organ, that the whole of the family *Coccaceae*, possess organs of motion in the form of cilia, and have, in conjunction with Prof. Arthur Meyer framed a new definition of the family, consistent with these results. It is manifest that, since 5 species belonging to the genus *Bacterium*, indiscriminately chosen, were also found to possess cilia, this characteristic is also the mark of the whole of the family *Bacteriaceae*. I would therefore modify Migula's classification of the *Bacteriaceae* in the following

manner, eliminating the genus *Bacterium* and retaining only the 2 genera *Bacillus* and *Pseudomonas*.

Family *Bacteriaceae*.

Cylindrical forms. Organs of motion in the form of cilia.

Endospore-formation common.

Genus *Bacillus*. Forms with peritrich cilia.

Genus *Pseudomonas*. Forms with polar cilia.

Whether there may be forms with both polar and peritrich cilia is at present uncertain, but it cannot be doubted that in the majority their location is fixed. I would only at present point out, that subsequent investigation may show that there are some forms, with both kinds of ciliation.

This investigation was carried out in the Lister (late Jenner) Institute, London, and I wish to express my indebtedness to Dr. Allan Macfadyan, the Director, of the Institute for providing me with a bench in his laboratory, and for much valuable criticisms which have contributed materially to its success.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Methodik der Bodenforschung.

I. Die Bestimmung der Zahl der Mikroorganismen im Boden.

[Aus der Abteilung für Bodenforschung des Institutes für landwirtschaftliche Pflanzenproduktionslehre in Breslau.]

Von Dr. **R. Thiele**.

Die physiologischen Eigenschaften eines Bodens verändern sich je nach der Art und Menge des Pflanzenwachstums und werden auch durch die Atmosphärien insofern beeinflusst, als dieselben die im Boden vor sich gehenden, uns in der Hauptsache noch dunklen Vorgänge beschleunigen bzw. einen Anstoß zu deren Auslösung geben. Diese Veränderungen sind vorwiegend chemischer Natur, und es soll vorläufig noch dahingestellt bleiben, inwieweit bei diesem kontinuierlichen Stoffwechsel in der Erde niedere pflanzliche und tierische Lebewesen in Frage kommen. Daß Mikroorganismen tatsächlich die Ursache gewaltiger Wirkungen sein können, ist hinlänglich bekannt; es stellen sich aber bei der Erforschung der Einzelfunktionen der Pilze und Bakterien der Ackerkrume so erhebliche Schwierigkeiten in den Weg, daß ein Vordringen in jenes geheimnisvolle Walten einstweilen nur in ganz bescheidenem Maße statthaben kann, denn alle sich in und unter der Ackerkrume aufhaltenden Lebewesen sind mehr oder weniger von dem sie umgebenden Medium und infolgedessen auch von dem steten Wechsel desselben abhängig, wie ich später noch zu beweisen Gelegenheit nehmen werde.

Schon Caron¹⁾ wies darauf hin, daß bei der bakteriologischen Bodenanalyse aus den sich ergebenden Zahlenverschiedenheiten nicht

1) Landw. Versuchsstationen. Bd. XLV. 1895. p. 400 ff.

Schlüsse bezüglich der Beschaffenheit des Feldes gezogen werden können und dürfen, daß sich uns jedoch ein Einblick in die Veränderlichkeit der Bodenflora bietet, daß schließlich auch eine eventuelle Wirkung der höheren Pflanzen auf die niederen Lebewesen, wenn auch nicht direkt, konstatiert werden kann. Es wurde daher hier versucht, die Veränderungen in der Bakterienzahl, welche bei plötzlichem Wechsel der Witterung, bei Anwachsen bezw. Rückgang des Grundwasserstandes, bei kontinuierlichem Regen nach längerer Trockenheit u. s. w. eintreten, einwandfrei festzustellen. Weiterhin wurde dabei ins Auge gefaßt, das Verhalten der Mikroorganismen gegenüber den wichtigen künstlichen Eingriffen, die zur Erzielung einer guten Brache notwendig sind, zu prüfen. Daß es in der Tat möglich ist, auch geringe Abweichungen der Mikrobienzahl und -Art konstatieren zu können, beweisen uns die hierselbst in bestimmten Intervallen angestellten noch laufenden Versuche.

Es soll nun im Vorliegenden die Art und Weise erörtert werden, die es uns ermöglichte, einen genaueren Einblick selbst in geringere Schwankungen zu erhalten, welchen die Mikroflora des Bodens ausgesetzt ist.

Die bisherige Methodik über den genannten Gegenstand hat zwar bereits mehrfach Veranlassung zu eingehender Erörterung geboten, trotzdem scheint es geraten, in der Hauptsache nochmals auf dieselbe zurückzukommen. Die erste exakte Untersuchung zur Bestimmung der Bakterienzahl im Boden, auf der alle übrigen basieren, verdanken wir C. Fraenkel¹⁾. Er säte eine gewisse Maßeinheit, den scharfen Löffel — indem er von dem Gewichte des Bodens absah — in die Gelatine²⁾ ein; zur Entnahme aus verschiedenen Tiefen benutzte er seinen allgemein bekannten Erdbohrer. Völlig abweichend von dieser Methode ist diejenige von Miquel³⁾, welcher den Boden zunächst bei 30° C 80 Stunden stehen ließ, zerrieb, und ihn dann wiederum 24 Stunden bei derselben Temperatur aufbewahrte. Nun erst übertrug er eine bestimmte Gewichtsmenge in 250 ccm sterilen Wassers und entnahm von dieser Aufschwemmung 10 ccm, welche er in weitere 240 ccm brachte. Diese letzte Verdünnung verwandte er dazu, 60—80 Reagenzgläser tropfenweise zu beschicken. Daß hieraus die divergierendsten Zahlen resultieren mußten, liegt auf der Hand, es wurde durch einige Nachprüfungen hierselbst auch unschwer nachgewiesen, weswegen diese Methode als die denkbar ungünstigste für unsere Beobachtungen angesehen werden muß.

Beumer⁴⁾ arbeitete in der Weise, daß er ein Meßgefäß von 1 ccm Inhalt benutzte, den Boden mit 100 ccm sterilem Wasser mischte, umschüttelte, und die Bodenpartikelchen, soweit notwendig, mit sterilem Glasstab zerrieb. Nach diesem Prozeß wurde eine bestimmte Menge mit einer Pipette entnommen, und es wurden Platten gegossen. Zur Verwendung gelangten wegen des Bakterienreichtums des Bodens nur Tropfen.

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. II. 1887.

2) Ebenda. p. 533. 534.

3) Annuaire de l'observation de Montsouris. 1882. Nach Reimers cit.

4) Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. XII. 1886. p. 464.

Reimers¹⁾ zerrieb $\frac{1}{10}$ ccm mit einem Metalllöffel abgemessene Erde in einem sterilen Achatmörser mit verflüssigter Gelatine. Nach der Bearbeitung wurden von dem erhaltenen Material Rollröhrchen angelegt.

Während Adametz²⁾ den Boden filtrierte, kehrte Eberbach³⁾ zu der alten Sitte des Zerreibens zurück. Er benutzte hierzu sterilen Sand; von dem erhaltenen Gemisch legte er mit einer Verdünnung von 1:20 Kulturen: teils Platten, teils Rollröhrchen an.

In ähnlicher Weise verfuhr Fülles⁴⁾, der sich ebenfalls des Maßes bediente und die Erde mit destilliertem Wasser in einer Reibschale zerkleinerte. Er ließ alsdann die Aufschwemmung bei $0^{\circ} \frac{1}{2}$ Stunde stehen, worauf er mit 1 ccm der Lösung 4 Platten besäte.

Smolenski, Maggiora und Swawitzky wichen bei ihren Arbeiten kaum von den eben beschriebenen Verfahren ab.

In den Veröffentlichungen von Caron⁵⁾, Ramann, Remélé, Schellhorn und Krause^{6) 7)} ist leider keine methodische Ausführung vorhanden, die letzteren erwähnen neben der Angabe der Zahlen kurz, daß sie die „Kochsche Plattenmethode“ benutzt hätten.

Die Isolierung der Bakterien von den Bodenpartikelchen war bisher schon der Kardinalpunkt der Methodik, denn nur wenn sämtliche an den Erdbröckchen haftenden Lebewesen in das Substrat gelangten, konnte von einer wirklich genauen Feststellung der Zahl die Rede sein, während im anderen Falle der Erfolg ziemlich zweifelhaft sein mußte. Alle oben besprochenen Verfahren der Isolierung wurden im hiesigen Laboratorium ausgeführt, doch ohne ein befriedigendes Resultat zu erzielen. Während ich erst später auf die Zahlendifferenzen u. s. w. eingehen werde, seien heute nur einige vorläufige Mitteilungen über die Technik gegeben.

Anfänglich wurde auch hier der scharfe Löffel (cf. Fraenkel) als Maßeinheit genommen, doch stellte es sich bald heraus, daß bei dem hiesigen lehmigen Tonboden durch die Abmessung eine so große Schwankung der Bakterienzahl eintritt, daß von diesem Verfahren Abstand genommen werden mußte. Es ergaben sich nämlich bei der Feststellung des Inhaltes folgende Zahlen:

Trockener Boden: Inhalt des scharfen Löffels 0,2055 – 0,2611 g

Nasser „ „ „ „ „ 0,1737 – 0,2383 „

Es wurde daher zu der Gewichtseinheit von 1 g zurückgegriffen.

Bei der Anwendung dieser Art standen uns aber wiederum nicht geringe Schwierigkeiten im Wege, in erster Linie die Gefahr

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VII. 1889. p. 315.

2) Inaug.-Dissert. Leipzig 1886.

3) Inaug.-Dissert. Dorpat 1890.

4) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. X. 1891. p. 232.

5) l. c.

6) Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jahrg. XXI. p. 575.

7) Die Arbeit Hiltners und Störmers über die Bakterien der Brache konnte leider wegen Abschluß der vorliegenden Erörterung nicht mehr berücksichtigt werden.

einer etwaigen Verunreinigung bei der Uebertragung des Bodens in die Wägegläschen durch Luftkeime des Laboratoriums. Um diese Eventualität auszuschalten, ließ ich bei einem hiesigen Töpfer einen 50 cm langen, 30 cm tiefen und 25 cm hohen Tonkasten herstellen, dessen Oberwand 10 cm vorspringt. An der Hinterwand ist eine Scheibe für Beleuchtung eingesetzt, ebenso ist für Oberlicht Sorge getragen. Der Boden des Kastens ist mit kleinen Löchern versehen, die in einen darunter liegenden abgeschrägten Boden mit Ausflußöffnung münden. Im Inneren befindet sich eine Regenvorrichtung, welche vor dem Gebrauch des Apparates in Tätigkeit gesetzt wird. Die Vorderwand besteht aus einer Glasscheibe, die an 2 Hohlzylindern, welche mit feuchter Sublimatwatte gefüllt sind, vorüberführt, sodaß die Platte stets während des Gebrauchs gereinigt wird. In dem mit Zonkafarbe gestrichenen Raume findet die Uebertragung der Erde in die Wägegläschen statt. Kontrollversuche haben mit 2 Ausnahmen — eine Platte zeigte 1, eine andere 3 Kolonien — 23 sterile Platten ergeben, so daß also bei der Uebertragung ein Fehler nicht zu erwarten ist bzw. daß derselbe so gering ist, daß er vernachlässigt werden kann. Die abgewogene Bodenmenge von 1 g wurde nun in 100 ccm sterile physiologische Kochsalzlösung gebracht. Es wurde diese nach verschiedenen Versuchen gewählt, da steriles Wasser einen scheinbar ungünstigen Einfluß auf die Bakterien ausübte, während ein solcher bei der Kochsalzlösung nicht konstatiert werden konnte.

Was nun die Isolierung der Bakterien, als den Brennpunkt der Methode anbetrifft, so ergab sich, daß trotz kräftigen Schüttelns immer wieder größere Bröckchen in der Flüssigkeit blieben. Ein Zerreiben mittels Glasstab oder Platinnadel mußte aber von neuem Gelegenheit für etwaige Verunreinigungen und Einwände zeitigen, ich versuchte daher, den Boden durch Beifügung von Porzellanperlen und nachträglichem Schütteln zu zerkleinern, da dieses Material aber perforiert war, so war der Erfolg auch nur ein teilweiser. Erst als die Perlen durch einheitliches Emailleschrot ersetzt wurden, gelang der Versuch. Dasselbe wird natürlich vor dem Sterilisieren der Kochsalzlösung zugefügt. Um nun völlig gleichbehandelte Proben zu erhalten, wurden die mit 1 g Erde beschickten Erlenmeyer in den Wagnerschen Schüttelapparat gebracht, welcher durch eine an der Wasserleitung angebrachte Turbine in nicht zu schnelle Umdrehung gesetzt wurde. Durch eine solche Behandlung sind nach 20 Minuten sämtliche Bodenpartikelchen gut zerrieben und es muß angenommen werden, daß sich alle Keime in Lösung befinden.

Bei der im hiesigen Boden vorhandenen gewaltigen Bakterienzahl mußte wohl oder übel eine erhebliche Verdünnung der erhaltenen Emulsion vorgenommen werden, was auf folgende Weise geschieht:

Von der ersten Verdünnung, 1:100, werden unter stetem Schütteln des Kölbchens in der Hand 5 ccm mit steriler Pipette entnommen und in 50 ccm sterile Kochsalzlösung gebracht. Zur gleichmäßigen Verteilung der Keime in dem neuen Substrat werden die Kölbchen abermals 5 Minuten in Rotation versetzt. Es erfolgt

nun dieselbe Manipulation, also Uebertragen von 5 ccm der Verdünnung in 50 ccm Kochsalzlösung und Schütteln, noch einmal und endlich aus dieser letzten Aufschwemmung eine Ueberführung von 10 ccm in 50 ccm Kochsalzlösung. Nachdem wiederum 5 Minuten gleichmäßig geschüttelt ist, erfolgt das Beschicken der Platten mit 0,5 und 1 ccm der letzten Aufschwemmung und nachfolgender Uebergießung mit dem Nährboden, gleich dem bei der Wasseruntersuchung üblichen Verfahren. Die Entnahme erfolgt natürlich unter kontinuierlichem Schütteln, was aber bei keiner der besprochenen Methoden angewendet wurde. Ein Stehenlassen zeitigt eine wesentliche Differenz der Keimmengen, wie ich später zu beweisen Gelegenheit nehmen werde.

Es sei noch erwähnt, daß anfangs, der Bequemlichkeit des Sterilisierens wegen, eine Serumspritze zur Uebertragung benutzt wurde. Dabei zeigte sich jedoch, daß die Abweichungen bei diesem Verfahren erheblich größere waren als bei dem des Abpipettierens. Beim Auswiegen des Spritzeninhaltes von 5 ccm betrug der Durchschnitt 4,7834 g und der Wahrscheinlichkeitsfehler $\pm 0,0182$ g, das ist also eine Schwankung von 4,7652—4,8016 g. Der Fehler beim Pipettieren ist aber wesentlich geringer, weshalb dieser Art der Uebertragung auch der Vorzug gegeben wurde.

Die zur Verwendung gelangten Erlenmeyer werden stets vor der ersten und nach der letzten Sterilisation gewogen, wobei diejenigen, welche bedeutendere Gewichtsschwankungen zeigen, eliminiert werden.

Zur eigentlichen Bestimmung der Zahl, deren Methode später besprochen werden soll, reichen in der Regel 3 Platten nicht aus, oder mit anderen Worten, bei 3 Platten ist der wahrscheinliche Fehler ein so enormer, daß eine korrekte Arbeit nicht möglich oder doch sehr in Frage gestellt ist. Anfangs wurde daher mit je 40 Platten pro Versuch gearbeitet, doch zeigte sich bei der Berechnung des Fehlers, daß eine geringere Anzahl verwendet werden konnte, und zwar genügten für jede Serie 10 Petri-Schalen. Die Kolonien werden sämtlich mit dem Apparat gezählt¹⁾, um den Fehler nach Möglichkeit zu verkleinern, derselbe beläuft sich denn auch auf weniger als ± 5 Proz. In bestimmten Zeitabschnitten werden aber von jeder Serie wiederum 20 Platten gegossen, um durch die größere Zahl eine genauere Kontrolle zu haben, die extremen Zahlen zeigen alsdann die Grenzen der Zahlen bzw. deren Schwankung an.

Wir sind also auf die Weise in der Lage, wenn auch vorläufig auf einem etwas umständlichen Wege, zu guten Resultaten zu gelangen, und es treten besonders deutlich die Artenunterschiede zu Tage, welche in den verschiedenen Jahreszeiten obwalten, so daß es uns gelang, einige Hauptvertreter der einzelnen Perioden auf bequeme Weise zu isolieren. Da der Versuch erst gegen Ende 1905 abgeschlossen werden kann, behalte ich mir vor, später eingehender darauf zurückzukommen.

1) Vergl. diese Ztschr. Bd. IX. 1902. p. 332.

Nachdruck verboten.

Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben.

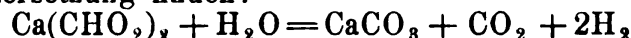
Von W. Omelianski.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im
Kaiserl. Inst. f. experimentelle Medizin in Petersburg.]

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Auf Grund dieser Tatsachen können wir leicht die Gleichung für diese Zersetzung finden:



Das bei der Gärung gebildete Calciumkarbonat befand sich teilweise als Bikarbonat in der Gärungsflüssigkeit gelöst, teilweise war dasselbe aus der Lösung ausgefallen und hatte sich an den Wandungen und am Boden des Gefäßes festgesetzt. Fig. 7 stellt einen Kolben dar, in welchem die eben beschriebene Gärung vor sich gegangen ist und zeigt die charakteristischen Kalkablagerungen am Boden und den Wandungen des Gefäßes.

Durch Analyse der ausgegorenen Flüssigkeit suchten wir vor allen Dingen zu bestimmen, ob die gesamte in den Versuch genommene Ameisensäure zersetzt war. Es erwies sich, daß dies nicht der Fall war, und daß ein beträchtlicher Teil derselben unberührt geblieben war. Um wenigstens eine approximative Vorstellung von der zurückgebliebenen Menge der Ameisensäure zu gewinnen, bestimmten wir in der ausgegorenen Flüssigkeit den Gehalt an gelöstem CaO nach Zersetzung des Calciumbikarbonats durch Kochen und Abfiltrieren des Niederschlages. In 100 ccm Flüssigkeit wurden 0,3358 g CaO oder 0,2389 g Ca gefunden; demnach war in 500 ccm Flüssigkeit 1,199 g Ca, also etwa 39 Proz. der ursprünglichen Menge, in Lösung geblieben.

Daß das in Lösung gebliebene Calcium wirklich an Ameisensäure gebunden war, wurde durch Bestimmung der flüchtigen Säuren nach dem Verfahren von Duclaux bewiesen. Es erwies sich nämlich, daß die flüchtigen Säuren fast ausschließlich aus Ameisensäure mit einer ganz geringen Beimengung von Essigsäure bestanden. Die letztere konnte natürlich auch von der Peptonzersetzung herkommen.

Wodurch sich die Unvollständigkeit in der Zersetzung der angewandten Ameisensäuremenge erklärt, ist schwer mit Sicherheit zu sagen. Es läßt sich annehmen, daß ein Grund hierfür in der Anaërobiose lag, welche gar bald in unserer Kultur Platz nahm und unter der von uns gewählten Zusammensetzung der Flüssigkeit einen für die Tätigkeit des Mikroorganismus ungünstigen Faktor bildet. Hier muß jedoch bemerkt werden, daß auch unter aëroben Bedingungen in der nämlichen Nährlösung der Prozeß ziemlich langsam verläuft und nicht zur vollständigen Zersetzung der gesamten in den Versuch genommenen Ameisensäuremenge führt; die Schuld daran liegt wahrscheinlich in dem schwachen Nährwert der Gärungsflüssigkeit.

Außer der unzersetzt gebliebenen Ameisensäure (mit Bei-

mengung von Essigsäure) und dem doppeltkohlensauren Kalk wurden keine anderen Gärungsprodukte entdeckt, wie es ja auch auf Grund der oben für die Zersetzung der Ameisensäure angeführten Gleichung zu erwarten war.

Das bei der Gärung gebildete Calciumkarbonat kristallisiert an den Wänden und am Boden des Kolbens als schön geformte mikroskopische Sphärolithe aus. Diese Sphärolithe haben eine zweifache Schichtung: 1) eine radiäre und 2) eine konzentrische (Fig. 5 u. 6). Es ist bemerkenswert, daß auch andere Mikroben, die wir in dieser Hinsicht prüften, den kohlensauren Kalk in derselben Form von Sphärolithen ausschieden.

Da die Zersetzung des Calciumformiats unter den oben beschriebenen Bedingungen nur sehr langsam verlief und nicht bis zu Ende ging, so erschien es wünschenswert, Bedingungen ausfindig zu machen, unter denen dieser Prozeß energischer von statten ginge. Als dazu geeigneter Nährboden erwies sich gewöhnliche Bouillon mit Zusatz von 0,2–0,3 Proz. ameisensaurem Natron. Wir wollen über einen derartigen Versuch berichten:

Am 28. April 1903 um 4 Uhr nachmittags wurde mit reiner Agarkultur des *Bact. formicicum* ein Kolben von 500 ccm Inhalt geimpft, der Bouillon mit Zusatz von 0,3 Proz. Natronformiat enthielt. Den Kolben füllten wir bis an den Hals vollständig zu, schlossen ihn mit einem Kautschukstopfen, der ein Gasableitungsrohr hindurchließ, und gossen Quecksilber auf den Stopfen.

Die Gärung begann in der Nacht vom 28. auf den 29. April. Am 29. April um 10 Uhr morgens befand sich die Flüssigkeit bereits in heftiger Gärung, und der obere Teil des Kolbenhalses war mit Schaum gefüllt. In der Röhre, welche zum Auffangen der Gase diente, fanden wir ca. 60 ccm Gas. Um 7 Uhr abends war die Röhre ganz mit Gas gefüllt und wurde durch eine neue ersetzt. Für die verflossene Zeit, d. h. vom Anfange der Gärung an bis zum 29. April 7 Uhr abends (gegen 15–20 Stunden), hatten sich 140,2 ccm Gas angesammelt von der Zusammensetzung: CO_2 15,4 Proz. und H_2 84,6 Proz.

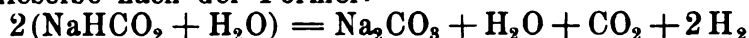
In den darauf folgenden Tagen wurde die Gärung bedeutend schwächer. Um die gleiche Gasportion zu sammeln, bedurfte es die Zeit vom 29. April bis zum 8. Mai, wobei 134 ccm Gas gesammelt wurden von der Zusammensetzung: CO_2 22,8 Proz. und H_2 77,2 Proz.

Das Volumen des Gases, welches im Kolben unterhalb des Pfropfens, sowie im Gasableitungsrohre zurückgeblieben war, sowie desjenigen, das sich noch im Laufe der letzten 9 Tage entwickelte (der Versuch wurde am 27. Mai unterbrochen), betrug 12,8 ccm und seine Zusammensetzung war: CO_2 — 25,2 Proz. und H_2 — 74,9 Proz.

Im Verlaufe der ganzen Gärung waren also 287 ccm Gas gesammelt worden, und zwar 231,6 ccm Wasserstoff und 55,4 ccm Kohlensäure. •

Um die Frage zu entscheiden, ob die Gesamtmenge des in den Versuch genommenen ameisensauren Salzes zersetzt worden sei, benutzten wir die soeben erhaltenen Werte für den bei der Gärung ausgeschiedenen Wasserstoff.

Bei der Zersetzung von 1,44 g ameisensauren Salzes hätten, wenn dieselbe nach der Formel:



vor sich geht, 374 ccm Wasserstoff erhalten werden müssen; dagegen waren bei der Gärung nur 231,6 ccm Wasserstoff gesammelt worden, mithin 61,9 Proz. Es ist bemerkenswert, daß auch in diesem Falle, wo die Gärung durchaus energisch von statten ging, annähernd der gleiche Teil von der angewandten Formiatmenge zerstört wurde, wie im früher angeführten Versuche mit ameisensaurem Kalk (s. oben). Die Unvollständigkeit der Zersetzung in diesem Falle könnte wohl in der allzu großen Steigerung der Alkaleszenz des Nährbodens ihre Erklärung finden.

Um dem Einwande zu begegnen, ein Teil des Gases stamme in diesem Versuche von der Zersetzung der Bouillon her, impften wir einen Kontrollkolben, der Bouillon von demselben Vorrat, jedoch ohne Zusatz von Natronformiat, enthielt. Es wurden aber bloß 2—3 Gasbläschen ausgeschieden.

Wie wir bereits erwähnten, sollen die Mikroben auf ameisensaure Salze, nach Hoppe-Seylers Meinung, einen dem fein verteilten Rhodium entsprechenden Einfluß ausüben; es handelte sich hier also um eine katalytische Einwirkung derselben auf das zu zersetzende Salz. Ist auch diese Anschauung für die Erklärung eines komplizierten biologischen Prozesses vielleicht eine allzu „chemische“, so ist dieselbe doch sehr verlockend durch ihre Einfachheit und so war es interessant zu prüfen, ob wohl die Zersetzung der Ameisensäure unter dem Einflusse der nämlichen Mikroben, deren Lebensprozesse doch durch Zusatz von antiseptischen Stoffen zum Stillstande gebracht wurden, von statten ginge.

Am 14. Oktober 1902 wurde eine in großen flachen Schalen auf dünner Schicht gewöhnlichen Agars gezogene zweitägige Kultur des *Bact. formicum* mit geringer Menge sterilisierten Leitungswassers von der Oberfläche abgespült, und je 2 ccm der so erhaltenen dicken Emulsion in 6 kleine Erlenmeyersche Kolben gebracht, welche bis zur Hälfte mit der üblichen Lösung von ameisensaurem Calcium und Pepton angefüllt waren. Infolge der reichlichen Impfung wurde die Flüssigkeit in den Kolben deutlich trüb. Von den 6 Kolben wurden 3 zur Kontrolle stehen gelassen, die anderen 3 jedoch erhielten jede einen Zusatz von 2 Tropfen Chloroform, welches erneuert wurde, sobald die Chloroformtropfen am Boden des Gefäßes schwanden. Sämtliche Kolben wurden bei 35° C gehalten. Am 20. Oktober trat in allen Kontrollkolben Gärung mit Bildung kohlensauren Kalkes auf. Die mit Chloroform versetzten Kolben standen 1½ Monate lang, ohne daß in ihnen Gärung auftrat. Aus diesem Versuche ließ sich der Schluß ziehen, daß die bloße Anwesenheit der narkotisierten Mikrobenleiber nicht genügt, um die Ameisensäure zu zersetzen — es ist eben nötig, daß die Mikroben auch leben und wachsen.

Nachdem wir nun unseren *Bacillus* als Ameisensäureferment studiert haben, wollen wir seine übrigen physiologischen Eigenschaften studieren. Das Erste, was uns hier interessierte, war das Verhalten des *Bact. formicum* gegen die übrigen Säuren

der Fettreihe, welche sich der Ameisensäure unmittelbar anschließen — der Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure u. s. w. Wir bereiteten vier 2-proz. Lösungen von Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure und normaler Buttersäure in Leitungswasser, welches 0,2 Proz. Pepton enthielt. Mit diesen Lösungen wurden 4 kleine Erlenmeyersche Kolben zur Hälfte angefüllt und in jeden Kolben wurde ein Stückchen Marmor geworfen. Am 12. Januar 1902 impften wir in gleicher Weise alle Kolben mit reiner Agarkultur des *Bact. formicum*. Am 18. Januar erschienen im Kolben mit dem ameisen-sauren Salze Häutchen und am folgenden Tage machte sich in dem-selben Gärung bemerkbar. In den übrigen 3 Kolben kam es, obgleich dieselben bis zum 29. April, also $3\frac{1}{2}$ Monate lang aufbewahrt wurden, nicht über das Auftreten einer Trübung hinaus, welche wahr-scheinlich durch das Wachstum des Mikroben auf Kosten der Peptonlösung bedingt war.

Ebenso negative Resultate ergaben die Versuche, unseren Mi-kroben in mineralischer Nährlösung zu kultivieren, welche oxal-saures Ammonium enthielt, was uns interessant erschien, da ja die Oxalsäure Molekel bekanntlich als aus zwei Molekülen Ameisensäure zusammengesetzt aufgefaßt werden. Weder bei aëroben noch bei anaë-roben Bedingungen trat Wachstum auf.

Zur Vervollständigung der physiologischen Charakteristik des Mikroben lag es uns nun noch ob, sein Verhalten gegen verschiedene gärungsfähige Kohlehydrate, höhere Alkohole u. dergl. zu prüfen. Zu diesen Versuchen stellten wir 1-proz. Lösungen verschiedener Stoffe in einer Flüssigkeit folgender Zusammensetzung her:

Kal. phosph.	0,1	Proz.
Amm. sulf.	0,1	"
Magn. sulf.	0,05	"
Natr. chlorat.	Spuren	
Aq. destillata.		

Es wurden folgende Substanzen untersucht:

- | | | |
|----------------|-------------|---------------------|
| 1) Glukose, | 6) Dulcit, | 11) Arabinose, |
| 2) Rohrzucker, | 7) Maltose, | 12) Gummi-arabicum, |
| 3) Galaktose, | 8) Dextrin, | 13) Aethylenglykol, |
| 4) Milhzucker, | 9) Amylum, | 14) Glycerin, |
| 5) Mannit | 10) Inulin, | 15) Erythrit. |

Mit jeder der Lösungen wurden je 2 Reagenzgläser zu $\frac{2}{3}$ an-gefüllt und in jedes Reagenzglas Kreide zugesetzt, um die etwa sich bildende Säure zu neutralisieren. Die Impfung wurde in gleicher Weise mit einer Agarkultur des *Bact. formicum* vorgenommen (in jedes Röhrchen 5 kleine Tropfen einer Auf-schwemmung eines Striches in 20 ccm Leitungswasser). Die Hälfte der Röhrchen wurden aërob gehalten, die andere Hälfte in einen Exsikkator gebracht, aus welchem die Luft ausgepumpt wurde, und der auf dem Boden alkalische Pyrogallollösung enthielt.

(Schluß folgt.)

Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserlich russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von S. A. Sewerin.

(Schluß.)

Damit schließen wir die Charakteristik des isolierten Bakteriums. Jetzt wollen wir seine Aromabildung besprechen. Auf Fleischwasserpeptonagar, -Gelatine und -Bouillon erzeugt dieses Bakterium in den ersten Tagen seiner Entwicklung einen deutlichen, angenehmen Obstgeruch, aber nur dann, wenn die Kultur bei Zimmerwärme vegetiert; bei 30° geht gar keine Aromabildung vor sich. Bloß einmal passierte es, daß ein bei 30° C ausgewachsener Agarstrich einen angenehmen Obstgeruch verbreitete, öfter aber kommt es vor, daß bei Zimmerwärme die Kultur aus irgend einem Grund kein Aroma bildet, bei nachfolgender Ueberimpfung aber wohl. In den folgenden Tagen, ungefähr nach Verlauf von 5 Tagen, beginnt der angenehme Geruch der Kulturen allmählich einem unangenehmen, faulig-ammoniakalischen bis zum völligen Schwunde des früheren Aroma Platz zu machen.

Von Interesse ist das Verhalten der geschilderten Species zu Milch; in letzterer bildet diese gar kein Aroma, weder bei Zimmerwärme, noch bei 30° C. Bei Zimmerwärme spürt man zwar mitunter nach ca. 5—10 Tagen einen sehr schwachen, nur sofort nach erstmaligem Herausziehen des Wattepropfens wahrnehmbaren, angenehmen Geruch, aber letzterer ist so schwach und verschwindet so schnell aus der Milch nach Herausziehen des Watteverschlusses, daß es unmöglich ist, ihn näher zu charakterisieren, aber meistens hat die Milch gar keinen Geruch. Bei Kulturen bei 30° wurde auch so ein schwaches Aroma niemals beobachtet, im Gegenteil die Milch verbreitete mitunter bereits nach ca. 5 Tagen einen nicht ganz angenehmen Geruch, aber ebenfalls in sehr geringem Grade. In der Voraussetzung, ob nicht die Aromabildung von dem Peptonzusatz zu den Nährböden abhängig sei, kultivierte ich das Bakterium in steriler Milch mit 1 Proz. Pepton, und impfte auch das geschilderte Bakterium in Milch zusammen mit einem Milch peptonisierenden Bakterium, erhielt aber keine Aromabildung. Ein ganz anderer Effekt wurde erzielt, als ich das Bakterium in sterile Milch zusammen mit einer Milchsäurekultur impfte; läßt man eine solche Impfung bei Zimmerwärme stehen, so spürt man mitunter schon in 24 Stunden, öfter aber in 36 Stunden, einen sehr deutlichen Obstgeruch, doch kommt bei 30° dieser Geruch nicht zum Vorschein; jedoch als Ausnahme geschah es zweimal, daß bei 30° nach 20 Stunden die geronnene Milch einen Obstgeruch hatte. Umgekehrt kommt es öfter vor, daß bei gleichzeitiger Impfung der Milch mit zwei Kulturen bei Zimmerwärme kein Aroma gebildet wird. Es läßt sich konstatieren, daß bei Zimmerwärme geimpfte

Milch ein besonders starkes Aroma verbreitet, solange die Milch nicht geronnen ist; ist letzteres eingetreten, so wird der Geruch bedeutend schwächer, mitunter schwindet er sogar ganz, er ist auch bei Umrührung der sauer gewordenen Milch nicht zu spüren, dem Geschmacke nach ist es auch schwer, einen deutlichen Unterschied zwischen solcher geronnener Milch und Milch, welche nur den Milchsäuremikroben allein enthielt, zu konstatieren. Man kann annehmen, daß die Aromabildung vorwiegend ganz an der Oberfläche der Milch vorgeht, im Inneren der Milch aber sehr schwach ist. Somit bildet das geschilderte Bakterium in Milch Aroma nur in Symbiose mit dem Milchsäurebakterium. Dieses Faktum berechtigt zur Annahme, daß die Aromabildung auf Kosten der von dem Milchsäurebakterium produzierten Milchsäure geschieht. In Anbetracht dieses Umstandes versuchte ich es, in steriler Milch Aroma hervorzurufen in Abwesenheit einer Milchsäurekultur, durch Zusatz an Stelle dieser von bereits fertiger, chemisch reiner Milchsäure in verschiedenen Proportionen. Doch wurde bei diesem Versuche kein positives Resultat erzielt, und dieses läßt voraussetzen, daß der durch Symbiose zweier Mikroorganismen hervorgerufene Prozeß der Aromabildung noch komplizierter sei, als man es annehmen konnte. Uebrigens müssen wir angeben, daß die Versuche mit Zusatz von Pepton und Milchsäure zur Milch sozusagen nebenher, bloß je einmal angestellt worden sind, und daß es darum riskiert wäre, irgend welche definitiven Schlüsse aus ihnen abzuleiten.

Welches ist nun der Einfluß des geschilderten Bakteriums auf Butter? Dieses Bakterium bildet Aroma nicht nur in Milch, sondern auch in Butter. Die Vergärung der Milch und des Rahmes zur Bereitung von Butterversuchsportionen erzeugte ich mit Hilfe von trocknen Reinkulturen, welche aus einem Gemisch von zwei Bakterien — eines Milchsäurebakteriums und des geschilderten — bestanden. Sämtliche Kontrollversuche, an welchen diverse andere Bakterien species beteiligt waren, wurden mit flüssigen Kulturen angestellt. Dabei stellte es sich heraus, daß das geschilderte Bakterium sämtliche Manipulationen bei der Zubereitung einer Trockenkultur sehr gut verträgt und in diesem weiteren, bereits trocknen Zustande seine Lebensfähigkeit nicht weniger als einige Monate erhält. Das Resultat dieser Prüfungen war folgendes: Sämtliche primäre Säurewecker, welche mit einer Trockenkultur versetzt waren (natürlich mit Pasteurisation der Molke), d. h. diejenigen Proben, deren Säuerung bei 30° vor sich ging, zeigen niemals ein Aroma, ebenso bilden auch sämtliche sekundären Säurewecker, welche gewöhnlich bei Zimmerwärme gehalten werden, gar kein Aroma; doch Aussaaten aus diesen Säureweckern auf Platten erwiesen stets die Anwesenheit des geprüften Bakteriums in den Säureweckern. Wenn somit bei 30° keine Aromabildung in den Säureweckern, vorwiegend infolge der für diesen Prozeß ungünstigen Temperatur, eintritt, so fehlt sie in bei Zimmerwärme säuernden Säureweckern, wo bei den obliegenden Verhältnissen eine Aromabildung vorhanden sein muß, sichtlich vor allem aus Mangel an Zeit. Bei uns kommen die Vergärungen gewöhnlich in

15 Stunden zur Gerinnung, während, wie bereits oben ausgeführt wurde, das Auftreten eines Aromas in einer mit einem Milchsäurebakterium geimpften Milchprobe erst nach Verlauf von ca. 24 Stunden gespürt wird und bis zum Eintreten der Gerinnung fortwährend stärker wird. Mit anderen Worten, das Aroma kommt bei langsamem Verlaufe der Milchsäuregärung zum Vorschein. Im pasteurisierten und mit den obengenannten Säureweckern geimpften Rahm tritt auch keine Aromabildung ein, wenn der Rahm zur Säuerung bei Zimmerwärme gehalten wird, weil hier die schnelle Entwicklung der Milchsäuregärung die Reifung des Rahmes in 15 Stunden und darunter beendet. Leider haben wir es unterlassen, die Säurewecker und Rahme, bei denen der ganze Säuerungsprozeß bei Zimmerwärme in 15 Stunden zu Ende geht, weiter zu beobachten, ob nicht etwa in der Folge, nach der Gerinnung, in ihnen sich Aroma zeigt. Man kann vermuten, daß die Ursache davon vielleicht am ehesten eine rapide Anhäufung von Milchsäure sei, welche nach Erreichung einer gewissen Konzentration wahrscheinlich einen ungünstigen Einfluß auf die Aromabildung ausübt. In Sauerrahm erwiesen Aussaaten auf Platten stets die Anwesenheit eines Aromaentwicklers, aber in geringerer Anzahl, als in den Säureweckern.

Was die Aromabildung in Butter anbelangt, so verhält es sich damit folgendermaßen: Bei unseren Prüfungen hielten wir die Butterproben stets bei Zimmerwärme, die Butter wurde ungesalzen in Gläser gelegt und bloß die Oberfläche der Butter wurde stark mit Salz beschüttet. Unter derartigen Bedingungen erweist es sich, daß eben ausgeschlagene Butter gar nicht jenes Aroma hat, welches von dem geschilderten Bakterium erzeugt wird, ebenso wenig nach einer Woche, dafür ist nach 3 oder 4 Wochen, mitunter etwas früher, beim Öffnen des Glases das Obstaroma stark ausgesprochen. Dieser Geruch ist für Butter so stark und ungewöhnlich, daß er anfangs einen ungünstigen Eindruck von Künstlichkeit macht, doch ist solch ein starker Geruch nur dicht über der Oberfläche der Butter und während der ersten Momente nach Öffnen des Glases zu vernehmen, später wird der Geruch bedeutend schwächer. Einen ganz anderen Eindruck erhält man, wenn man eine tiefere Butterschicht prüft; hier ist dieser Geruch schwach ausgeprägt und macht darum einen sehr günstigen Eindruck; hier fällt es bereits schwer, ihn als Obstgeruch zu charakterisieren, so wenig ist er ausgesprochen, und darum läßt sich solche Butter überhaupt als aromatische charakterisieren, indem damit gesagt werden soll, daß dieses Aroma in der Butter ein natürliches und angenehmes ist. Die Haltbarkeit der Butter leidet nicht unter der Anwesenheit dieses Aromaentwicklers, wenigstens haben 2 Kontrollversuche mit Butter, welche nur mit einer Reinkultur eines Milchsäurebakteriums zubereitet war, einen Vorzug dieser Butter in Bezug auf Haltbarkeit nicht erwiesen.

Somit verleiht der von uns geschilderte Mikroorganismus der Butter ein angenehmes Aroma — nicht durch vorherige Entwicklung desselben im Säure-

wecker und im Rahm während ihrer Reifung, sondern unmittelbar in der Butter selbst und dabei nicht früher als nach Verlauf von 2—4 Wochen bei Zimmerwärme. Auf Kosten welchen Bestandteiles der Butter die Aromabildung geschieht, warum das Aroma so spät in der Butter auftritt — ob infolge seiner langsamen Anhäufung, oder deshalb, weil der Aromaentwickler eine Anhäufung irgend welcher anderer Substanzen in der Butter durch andere Bakterien, wie z. B. Milchsäure u. a., als notwendige Komponenten zur Erzeugung des betreffenden Aromas erfordert, alle diese Fragen lassen wir offen. Wie dem auch sei, die geschilderte Species kann bei der Verwendung von Reinkulturen für die Zwecke der Butterpraxis sichtbare Dienste erweisen und namentlich bei Zubereitung von Exportbutter, bei welchem das späte Auftreten des Aroma noch zur rechten Zeit kommen würde.

Doch bei solch einem utilitärem Standpunkte kann man befürchten, ob die geschilderte Spezies, bei künstlicher Züchtung im Laboratorium imstande sein wird, ihre Fähigkeit, Aroma zu bilden, beizubehalten. Diese Befürchtung ist nicht unbegründet, denn jetzt bereits wird seitens einiger Forscher die Ansicht geäußert, daß die Fähigkeit der Bakterien, Aroma zu entwickeln, keine konstante sei, wofür wir auch einige Beispiele besitzen. So hat der Cohnsche Aromaentwickler, Bac. No. 41, mit der Zeit diese Fähigkeit eingebüßt, die Kultur des *Bact. esterificans Stralauense Maassen* hat schnell die Fähigkeit, Aether zu bilden, verloren, dasselbe Faktum registriert Weigmann für seine Kulturen und vor kurzem konnten wir dasselbe an der von M. Grimm in dieser Zeitschrift 1902 beschriebenen Kultur des *Bac. aromaticus lactis* feststellen. Auf unsere Bitte sendete uns H. Grimm eine Kultur dieses *Bacillus* zu, bei deren Prüfung es sich herausstellte, daß dieselbe bei Kultivierung in Milch bei 22—25° C nicht die geringsten Spuren von Aromabildung aufwies, während dieselbe nach Angabe des Autors bereits nach 24 Stunden intensives Aroma entwickelt, ebenso hatte mit einer Reinkultur, welche auch den *B. aromaticus lactis* enthielt, zubereitete Butter keine Spur von Aroma. Abgesehen von diesen Literaturangaben, beruhen die Bedenken hinsichtlich der Vergänglichkeit der Aromabildung bei der von uns ausgeschiedenen Kultur teilweise auch auf einigen Tatsachen. Die Sache ist nämlich die, daß dieses Bakterium bei uns die ganze Zeit auf einfacher Gelatine und auf Gelatine mit 4 Proz. Milchzucker wuchs, und bereits nach 3 Monaten erwies es sich, daß die Kultur, welche auf gewöhnlicher Gelatine vegetierte, die Fähigkeit, Aroma zu bilden, endgültig verloren hatte, indem auf allen angewandten Nährmedien, darunter auch auf Gelatine mit Milchzucker, die Aromabildung ausblieb. Dagegen hatte die Kultur, welche von Anfang an auf Gelatine mit Milchzucker vegetiert hatte, während jener 8 Monate, wo wir mit derselben zu tun hatten, ihre Fähigkeit, Aroma zu entwickeln, total erhalten. Wie es weiter damit bestellt sein wird, wird die Zukunft lehren. Im Besitze zweier Variationen einer und derselben Species,

von denen die eine ein Aromaentwickeler ist, die andere diese Funktion verloren hat, haben wir dieselben unter anderen einem sorgfältigen Vergleiche unterzogen, dabei stellte es sich heraus, daß ihr Wuchs auf sämtlichen von uns gewöhnlich gebrauchten Nährmedien ein ganz identischer war. Somit hat der Verlust einer Funktion keine anderen, weder morphologische noch physiologische, Veränderungen in der Natur der Bakterien-species im Gefolge gehabt.

In Anbetracht dessen, daß die von uns isolierte Bakterien-species mit keiner der bisher beschriebenen Arten zu identifizieren ist, betrachten wir dieselbe als eine neu entdeckte, und möchten ihr die Bezeichnung *B. aromaticus butyri* beilegen. Bemerkt sei, daß die Kultur des *B. aromaticus lactis* Grimm in vielen Merkmalen unserem Bakterium ähnelt, bei flüchtiger Untersuchung kann man sie anfangs sogar miteinander verwechseln; jedenfalls ist es eine sehr nahestehende, verwandte Art. Dasselbe gilt für das Bakterium *Fragi* Eichholz (Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1902. No. 11, 12). Anscheinlich steht unserer Species auch *Pseudomonas fragariae* T. Gruber (Centralblatt für Bakteriologie. 1902. No. 19) sehr nahe und die Fähigkeit, Aroma zu bilden auf Nährböden und in Butter, vereinigt sie noch mehr; endlich ist das *Bact. esterificans* Stralauense A. Maasen (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XV. 1899) ebenfalls ein nahe verwandter Aromaentwickeler, aber der Autor hat ihn in seiner Arbeit zu karg charakterisiert, indem er ihm nur einige Zeilen gewidmet hat, so daß es unmöglich ist, mehr oder weniger bestimmt auszusprechen, wieweit sich diese Species unserer nähert.

Zum Schlusse meiner Abhandlung will ich einige Worte über Reinkulturen in der Butterpraxis überhaupt fallen lassen. In seiner Arbeit „Ueber einen neuen, aromabildenden *Bacillus* nebst einigen Bemerkungen über Reinkulturen für Exportbutter (Centralbl. f. Bakt. 1902) konstatiert M. Grimm, daß flüssige Kulturen an Reinheit den Trockenkulturen stets überlegen sind. Doch sei bemerkt, daß dieses Faktum auch schon früher verzeichnet wurde und daß es leicht erklärlich ist. Die Technik der Anfertigung von flüssigen Kulturen ist so einfach, daß dort eine Verunreinigung, abgesehen von einer seltenen Ausnahme, eine unverzeihliche Fahrlässigkeit wäre, während bei Zubereitung von Trockenkulturen, wo alle Manipulationen bedeutend komplizierter sind, eine geringe Verunreinigung fast unvermeidlich ist. Doch darf man daraus keineswegs einen Schluß zu Ungunsten der Trockenkulturen ableiten, und dennoch wird diese tatsächliche Verunreinigung, welche im wesentlichen nicht die geringste Bedeutung hat, den Trockenkulturen als wesentlicher Nachteil angerechnet. Die Sache ist die, daß bei regelrechter Anfertigung einer Trockenkultur eine Verunreinigung nur aus der Luft erfolgen kann, und dabei in diejenige Masse, aus welcher die Kultur angefertigt wird und welche für die Bakterien nicht den geringsten Nährwert hat, und in eine trockne Masse geraten kann. Falls die Kultur unter entsprechenden Vorichtsmaßregeln steht, in einer Atmosphäre von reiner Luft, so ist

die Verunreinigung aus letzterer minimal und — was wichtig ist — sie kommt in dem zur Anfertigung der Kultur dienenden Material oder der bereits fertigen Kultur dank den obengenannten Umständen — der Wertlosigkeit dieses Materiales als Nährmedium und dem trocknen Zustande desselben — nicht zur Entwicklung. Wenn z. B. aus der Luft 100 Keime hineingekommen sind, so werden ihrer auch weiter so viel bleiben. Es ist sehr verständlich, daß eine derartige Verunreinigung in einer gut zubereiteten, energische Milchsäuregärung erzeugenden Kultur nicht die geringste Rolle spielt; schon in dem ersten aus einer solchen Kultur angefertigten Säurewecker wird man diese Verunreinigung nicht auffinden können. Andererseits werden die Kulturen für die Praxis angefertigt, mit ihnen wird in der Folge der Butterfabrikant unter solchen Verhältnissen operieren, bei denen die Verwendung von Kulturen, sogar bei musterhaftester Einrichtung des Molkereibetriebes, natürlich mit unermesslich größerer Verunreinigung einhergeht, als es durch die Kultur selbst geschieht. Die Hauptsache ist, daß die Kultur regelrecht hergestellt und kräftig ist, ist das der Fall, so hat die minimale, in der Trockenkultur selbst konstatierte Verunreinigung nicht die geringste praktische Bedeutung, und die Frage einer solchen Verunreinigung erscheint als rein akademische. Ganz anders verhält es sich, wenn eine Verunreinigung bei Anfertigung einer flüssigen Kultur erfolgt; hier werden die Keime in die zur Anfertigung der Kultur dienende Milch hineingeraten, und es ist verständlich, daß sie sämtliche Chancen für die weitere Entwicklung zugleich mit den nützlichen Bakterien haben; hier ist eine Verunreinigung nicht zulässig. Uebrigens müssen wir zugestehen, daß die in den Trockenkulturen einzelner Laboratorien beobachtete Verunreinigung mitunter über das Zulässige hinausgeht, sie ist übermäßig stark und zeugt direkt von Fahrlässigkeit oder Unvertrautheit mit der Herstellung von Trockenkulturen. In solch einem Falle wird die Kultur durch diese Verunreinigung, besonders wenn sie selbst nicht genügend energisch ist, zum Gebrauche wenig tauglich. Unter anderem sei bemerkt, daß die mitunter bei Butterfabrikanten vorkommenden Mißerfolge mit Trockenkulturen vorwiegend dadurch entstehen, daß sie es mit einer alten Kultur, mit stark vor der Zeit herabgesetzter Lebenstätigkeit der in derselben enthaltenen Bakterienkeime, mitunter sogar totalem Absterben letzterer zu tun hatten. Leider schenken die Laboratorien, welche Trockenkulturen anfertigen, dieser Tatsache wenig Aufmerksamkeit, indem sie Kulturen ohne Bezeichnung des Datums ihrer Anfertigung und ohne Angabe der Haltbarkeit zum Verkauf stellen; dieser Umstand hat aber bereits der Verbreitung von Trockenkulturen in der Butterpraxis schlechte Dienste geleistet. Die mit denselben vorkommenden Mißerfolge infolge des oben besprochenen Umstandes haben bei den Butterfabrikanten unwillkürlich ein Vorurteil gegen Trockenkulturen wachgerufen, während bei richtiger Organisation der Sache sämtliche Vorzüge zweifellos auf seiten der Trockenkulturen sein müssen. Alles hier Ausgeführte sollte dazu dienen, zu betonen,

daß die mitunter bei den Butterfabrikanten vorkommenden Mißerfolge bei der Verwendung von Trockenkulturen nicht dadurch entstehen, daß die Trockenkultur an und für sich, als gewisse Präparatform, den notwendigen Anforderungen nicht entsprechen kann, sondern dadurch, daß bei ihrer Anfertigung Fehler zugelassen werden, welche ihr Renommee schädigen, und dabei solche Fehler, deren Beseitigung nicht die geringste Schwierigkeit darbietet. Noch einige Worte bezüglich des Einflusses von Milchhefe auf Geschmack und Haltbarkeit der Butter: In seiner oben genannten Arbeit behauptet Grimm, daß die Milchhefen, welche früher stets in der Hansenschen Kultur enthalten waren, nicht als Aromaentwickeler betrachtet werden können, weil auch ohne ihre Teilnahme dasselbe Resultat erzielt wird. Mit einer derartigen Ansicht, daß Hefen gegen Säurewecker, Rahm und Butter ganz indifferent wären, kann man sich keineswegs einverstanden erklären; ich möchte gerade das Umgekehrte behaupten — es gibt nichts leichteres, als mit Hilfe des Geschmackes und Geruches Butter oder z. B. Rahm herauszufinden, welche mit einer Hefen enthaltenden Kultur zubereitet worden ist; so sehr stark und spezifisch ist ihr Einfluß, natürlich unter der Bedingung, daß keine alte Kultur mit herabgesetzter Lebenstätigkeit der Hefen verwendet wurde. Falls Hefen in mäßiger Menge in der Kultur enthalten waren, so nimmt die Butter einen besonderen Beigeschmack und Geruch an, welchen man nach meiner Ansicht als nußartig bezeichnen kann, und solch einen Beigeschmack finden manche angenehm. Falls die Hefen in großer Menge vorhanden sind, so vermutet Grimm, daß sie infolge ihrer angeblich starken peptonisierenden Eigenschaft einen ungünstigen Einfluß auf die Haltbarkeit der Butter ausüben würden, aber Milchhefen haben diese peptonisierende Eigenschaft nicht, und zweitens beeinflussen sie bei meinen Versuchen sowohl mit Milchhefen der Hansenschen Kultur als auch mit aus diversen anderen Quellen, wie z. B. aus Kumys und Sauerrahm isolierten, sogar bei sehr starker Entwicklung in Säureweckern, weniger als irgend etwas anderes die Haltbarkeit der Butter, und in dieser Hinsicht kann man sie am ehesten als indifferent bezeichnen, aber dafür sind mit solchem Säurewecker angefertigter Rahm und Butter durch ihren unangenehmen, reinen Hefegeschmack und Hefegeruch scharf gekennzeichnet. Mit einem Worte, die Tauglichkeit der Hefen zur Aromabildung in der Butter kann in Abhängigkeit von der Subjektivität der Geschmacksempfindungen bestritten werden, aber keineswegs darf man behaupten, daß die An- oder Abwesenheit von Hefen in der Kultur für den Geschmack des Rahmes und der Butter überhaupt belanglos sei.

15. August 1903.

Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien.

Von Dr. med. vet. **Arthur Lux** in Neuhausen (Sachsen).

(Schluß.)

Eine Vergleichung meiner Befunde mit den Charakteren des *Bacterium Guentheri* (Lehmann und Neumann), welches nach Gram färbbar, in Gelatine ein schwaches, auf Kartoffel ein kümmerliches Wachstum zeigt, hat ergeben, daß diese Form offenbar nur selten vorkam. Die Färbung nach Gram gelang bei meinen Bakterien manchmal, dagegen war das Wachstum auf Gelatine und Kartoffel stets ein gutes, so daß eigentlich kein Anlaß vorhanden war, einzelne Kolonien als solche des *Bacterium Guentheri* zu bezeichnen.

Auch die Trennung von *Aërogenes* und *Coli* konnte nicht glatt durchgeführt werden.

In der Regel sind die unter 1—6 genannten Bakterien für das Euter nicht pathogen und nur ausnahmsweise erzeugen sie eine Mastitis. Dies ist aber wirklich manchmal der Fall und die Staphylokokken-, Galaktokokken- und *Coli*-Mastitiden sind wohlbekannte nosologische Species (Guillebeau, 14).

Was die Art der Bakterien der Milch anlangt, so sind von Schulz (17) Kolonien gefunden worden, über deren botanische Stellung der Autor nichts näheres angibt. Larsen (15) fand Kokken, Bacillen und ein ovoides Bakterium, auch vereinzelt Streptokokken bei seinen Untersuchungen über „Die Scheidewände in den Zitzen der Rinder und deren Behandlung“. Ähnliche Resultate zeitigten auch die Untersuchungen Barthels (2) und der Holländer Boeckhout und de Vries (3), desgleichen Wards (21), welcher sowohl die Milch selbst als auch das Euterinnere der Untersuchung unterwarf. Boeckhout und de Vries heben hervor, daß die Bakterienflora bei verschiedenen Tieren eine stets wiederkehrende und gleichförmige sei.

Was die Arbeit Conns (5) anlangt, so nennt dieser Forscher das *Bacterium acidilactici* Esten als in der Milch häufiger vorkommend; es soll aus der Außenwelt in die Milch gelangen und also kein eigentlicher Bewohner der Milchausführungsgänge sein. Dasselbe sagt Conn auch von dem *Bacterium acidilactici* II, das er als Varietät des erstgenannten bezeichnet. Das *Bacterium lactis aërogenes*, welches Conn unter anderem auch mit dem Hueppeschen *Bacterium acidilactici*, gleich wie es noch andere Forscher getan haben, identifiziert, wird von dem genannten Autor sehr häufig in der Milch gefunden, desgleichen gelangt auch das *Bacterium coli commune* und das *Bacterium prodigiosum* mehrfach zur Beobachtung. Ferner nennt Conn einen anderen Mikroorganismus, den er als *Micrococcus varians* bezeichnet, als in der Milch häufig vorkommend; nach der Beschreibung ist wohl anzunehmen, daß derselbe mit

Keimgehalt der

Die Zahlen 1—6 bedeuten: 1 = *Staphylococcus mastitis albus* Guillebeau, 2 =
4 = *Bacterium prodigiosum*, 5 = *Bacterium luteum*,

I.

A. Heufütterung mit Kurzfutter. Letzteres bestand aus Strohhacksel,
mit Wasser

Kuh	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl								
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.		
1. Hirz	r. B.	26. 3.	911	11	222	0	0	200	1344	100	11	0	0	0	0	111		
„	r. B.	31. 3.	1044	0	134	0	0	0	1178	78	0	0	0	0	0	78		
„	r. S.	31. 3.	278	0	0	0	0	22	300	967	0	44	0	11	78	1100		
„	l. B.	31. 3.	156	0	0	0	0	0	156	4078	0	22	0	111	200	4411		
„	l. S.	26. 3.	556	22	67	0	11	0	656	333	0	67	0	0	278	678		
„	l. S.	31. 3.	1478	0	233	0	0	56	1767	1933	0	11	0	0	67	2911		
2. Krone	r. B.	26. 3.	589	11	111	33	11	67	822	2933	78	544	0	0	467	3622		
„	r. B.	31. 3.	744	11	44	0	0	57	856	956	11	11	0	0	0	978		
„	r. S.	26. 3.	444	12	0	0	0	0	456	122	0	33	0	0	112	367		
„	r. S.	31. 3.	778	0	133	0	0	45	956	22	11	0	0	0	0	33		
„	l. B.	31. 3.	278	0	100	0	0	0	378	111	0	56	0	0	666	833		
„	l. S.	31. 3.	133	0	22	0	0	12	167	1178	11	489	0	0	89	1767		
Durchschnittszahlen			I. Strahl:							465	II. Strahl:							1957
										753								491
60 Proben enthalten durchschnittlich pro Kubikcentimeter																		

B. Heufütterung

Kuh	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl						
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
1. Prinz	r. B.	20. 4.	0	0	0	0	0	0	0	33	0	11	0	0	0	44
	r. S.	"	133	0	67	22	0	0	222	244	0	78	0	0	67	389
2. Schütz	r. B.	"	78	0	22	0	0	0	100	122	0	22	0	0	945	1089
	r. S.	"	344	0	78	0	0	178	600	22	0	34	0	0	0	56
3. Dachs	r. B.	"	511	0	233	0	0	0	744	633	0	67	0	0	122	822
	r. S.	"	578	0	56	11	0	433	1078	1856	0	33	0	0	22	1911
4. Bethli	r. B.	"	367	0	33	11	0	1389	1800	3956	0	467	11	0	244	4678
	r. S.	"	1278	0	156	0	0	22	1456	2989	11	978	33	44	356	4411
5. Bak	r. B.	"	2855	0	567	0	0	0	3422	56	0	0	11	11	0	78
	r. S.	"	411	0	89	0	0	133	633	944	0	111	0	0	656	1711
6. Tübli	r. B.	"	22	0	22	0	0	112	156	389	0	33	11	0	0	433
	r. S.	"	278	0	0	0	0	0	278	189	0	11	0	0	0	200
7. Primel	r. B.	"	1033	0	323	0	0	0	1356	1067	11	100	0	0	44	1222
	r. S.	"	1422	0	267	22	22	756	2489	1133	0	256	0	33	0	1422
8. Beatrice	r. B.	"	644	0	211	22	0	89	967	2567	0	333	22	11	723	3656
	r. S.	"	5423	33	444	67	22	800	6789	2478	0	211	0	0	1867	4356
9. Spieß	r. B.	"	1167	0	166	0	0	0	1333	1711	0	111	0	0	0	1822
	r. S.	"	289	0	11	0	0	0	300	178	0	0	0	0	144	322
10. Schimmel	r. B.	"	1467	0	256	33	0	533	2289	1489	0	244	0	0	23	1456
"	r. S.	"	1600	0	300	0	0	0	1900	1978	0	189	0	0	0	2167
Durchschnittszahlen			I. Strahl:						4445	II. Strahl:						5213
									1396							1637
100 Proben enthalten durchschnittlich pro Kubikcentimeter																

Milch im Euter.

Staphylococcus mastitis aureus Guillebeau, 3 — Galactococcus versicolor Guillebeau,
6 = Bacterium lact. aërogenes oder coli oder acid. lactic.

Kuh

Futtermehl, Gerstenschrot und Kleie und wurde 2 Tage vor der Verfütterung angefeuchtet.

III. Strahl							Mitte des Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
0	0	0	0	0	22	22	144	0	256	0	0	44	444	278	0	22	0	0	0	300
522	0	0	0	34	0	556	1511	0	467	0	0	78	2000	811	0	56	0	0	0	867
956	0	56	0	0	89	1100	3233	33	156	0	0	178	3600	44	0	0	0	0	12	56
2378	0	55	0	11	0	2444	1400	0	67	0	0	0	1467	0	0	0	0	0	0	0
456	44	289	0	0	0	789	1067	33	56	0	22	0	1178	67	0	22	0	0	0	89
2911	0	111	0	0	67	3089	1944	22	144	0	0	144	2256	1200	0	11	0	0	33	1244
1178	22	244	0	11	178	1544	4078	0	211	0	56	222	4567	344	22	122	12	0	0	500
789	0	67	0	0	111	967	122	11	78	0	0	0	211	56	11	11	0	0	0	78
667	11	67	0	0	166	911	622	33	56	0	22	0	733	0	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	33	922	11	0	0	0	134	1067	278	11	0	0	0	0	289
4933	11	11	0	0	445	5400	344	0	89	0	0	467	900	356	22	33	0	0	80	500
233	0	45	0	0	0	278	233	0	11	0	0	0	244	267	33	178	0	0	0	478
1078							1267							134						
III. Strahl: 1428							Mitte d. Gemelkes: 1556							Ende d. Gemelkes: 367						

919 Keime, speziell 80 Coli- und Aërogenesstäbchen.

mit Malzkeimen.

III. Strahl							Mitte des Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
11	0	0	0	0	0	11	33	0	0	0	0	56	89	544	0	56	0	0	522	1122
433	0	134	0	0	0	567	533	0	67	0	0	1311	1911	578	0	33	11	0	1411	2033
456	0	33	0	0	589	1078	0	0	0	0	0	0	0	89	0	11	0	0	598	689
111	0	67	0	0	1189	1367	0	0	0	0	0	78	78	1333	0	56	0	0	1444	2833
1556	11	111	22	0	111	1811	811	0	67	0	0	0	878	0	0	0	0	0	189	189
2644	0	322	0	11	200	3067	922	0	78	11	0	0	1011	11	0	0	0	0	0	11
3578	0	278	0	22	144	4022	78	0	11	0	0	0	89	200	0	33	0	0	0	233
9400	33	1789	222	78	522	12044	1133	0	167	0	0	644	1944	400	0	300	0	0	78	778
322	0	56	0	0	289	667	0	0	11	0	0	11	22	133	0	0	0	0	0	133
733	0	111	23	0	0	867	800	0	78	0	0	11	889	867	0	122	33	11	34	1067
1222	22	178	11	0	445	1878	556	11	311	11	0	22	911	522	0	11	0	0	11	544
133	0	11	0	0	0	144	133	0	34	0	0	0	167	22	0	0	0	0	11	33
1178	0	89	11	0	0	1278	1211	11	156	11	0	0	1389	2311	0	244	12	0	0	2567
1878	9	155	0	0	0	2033	144	0	11	0	0	45	200	3444	0	156	0	0	0	3600
656	0	100	0	0	44	800	311	0	22	0	0	0	333	1322	0	211	0	0	11	1544
1033	0	147	0	0	44	1211	1478	0	333	11	0	156	1978	600	11	100	0	0	0	711
2333	0	256	0	0	533	3122	133	0	0	11	0	1023	1167	56	0	0	0	0	0	56
778	0	78	0	0	757	1611	1378	0	0	0	89	133	1600	133	0	23	0	0	0	156
1311	0	22	0	0	0	1333	844	0	145	11	0	0	1000	522	0	22	12	0	0	556
2222	22	1	145	0	0	2389	1044	0	44	0	0	56	1144	1389	0	222	22	11	0	1644
4867							3546							4300						
III. Strahl: 2066							Mitte des Gemelkes: 839							Ende des Gemelkes: 1020						

1391 Kolonien speziell 223 Coli- und Aërogenesstäbchen.

C. Tägliche Schwankung
Rechte

Kuh	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl						
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
Hirz	r. B.	25. 5.	1844	0	33	0	0	167	2044	2233	11	200	11	33	112	2600
"	r. B.	26. 5.	1567	0	133	0	0	144	1844	2822	0	167	0	11	511	3511
"	r. B.	27. 5.	478	0	89	0	0	33	600	256	0	78	0	0	22	356
"	r. B.	28. 5.	1300	0	89	0	0	78	1467	3156	0	156	0	0	332	3644
"	r. B.	29. 5.	0	0	11	0	0	0	11	867	0	0	0	0	111	978
"	r. B.	30. 5.	44	0	0	0	0	0	44	300	0	11	0	0	0	311
Durchschnittszahlen			I. Strahl: ⁴²⁴ 1002							II. Strahl: ¹²⁸⁸ 1900						

Rechte

Kuh	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl						
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
Hirz	r. S.	25. 5.	244	0	44	0	0	12	300	2889	11	67	0	33	89	3089
"	r. S.	26. 5.	2089	11	200	0	11	322	2633	1056	0	11	0	0	55	1122
"	r. S.	27. 5.	0	0	2011	0	0	0	2011	2244	0	133	0	0	56	2433
"	r. S.	28. 5.	3389	0	178	0	0	111	3678	2611	33	122	0	0	134	2900
"	r. S.	29. 5.	3522	44	422	0	22	301	4311	1089	0	211	0	0	100	1400
"	r. S.	30. 5.	1533	0	144	0	0	245	1922	2800	0	211	0	0	0	3011
Durchschnittszahlen			I. Strahl: ⁹⁹¹ 1809							II. Strahl: ⁴³⁴ 2326						

60 Proben enthalten durchschnittlich pro Kubikcentimeter

II.
D. Heufütterung

Ziege	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl						
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
No. I	r.	31. 3.	67	0	0	0	0	22	89	67	11	0	0	0	22	100
" I	r.	31. 3.	111	0	0	0	0	11	132	1022	0	0	0	0	0	1022
" I	l.	4. 4.	44	0	0	0	0	0	44	700	33	256	0	0	11	1000
" I	l.	4. 4.	122	0	11	0	0	0	133	1056	0	0	0	0	0	1056
Durchschnittszahlen			I. Strahl: ³³ 97							II. Strahl: ³³ 1020						

Von 20 Proben durchschnittlich 416 Kolonien pro Kubik

E. Grasfütterung

Ziege	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl						
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
No. I	l.	20. 5.	22	0	0	0	11	0	33	0	11	0	0	11	22	44
" I	r.	20. 5.	367	56	0	0	0	33	456	256	0	22	0	11	33	322
" I	l.	20. 5.	0	0	0	0	0	0	0	322	0	0	0	0	11	333
" I	r.	20. 5.	33	0	0	0	0	11	44	33	0	0	34	0	0	67
" II	l.	20. 5.	189	0	11	0	0	0	200	433	0	11	0	0	34	478
" II	r.	20. 5.	56	0	0	0	0	11	78	700	0	0	0	0	0	700
Durchschnittszahlen			I. Strahl: ⁵⁵ 135							II. Strahl: ¹¹⁰ 324						

Von 30 Proben durchschnittlich 249 Kolonien pro Kubik

bei Grasfütterung.
Bauchzitze.

III. Strahl							Mitte des Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
1400	0	0	0	0	56	1456	500	0	0	0	0	0	500	322	0	0	0	0	0	322
644	11	122	0	0	134	911	167	0	11	0	0	11	189	444	0	0	0	0	0	444
122	0	0	0	0	0	122	89	11	0	0	0	11	111	189	0	0	0	0	11	200
767	0	0	0	0	33	800	3222	11	167	0	0	167	3567	156	0	11	0	0	22	189
4667	11	356	0	22	422	5478	22	0	0	0	0	0	22	122	0	0	0	0	11	133
356	0	44	0	0	11	411	56	0	0	0	0	11	67	33	0	0	0	0	0	33
						656							200							44
III. Strahl:						1530	Mitte d. Gemelkes:						743	Ende d. Gemelkes:						220

Schenkelzitze

III. Strahl							Mitte der Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
922	0	178	0	0	44	1144	344	0	0	0	0	12	356	1833	0	256	0	0	178	2267
911	0	144	0	0	112	1167	800	11	133	0	0	234	1178	4089	0	289	0	22	578	4978
1067	0	89	0	0	11	1167	489	0	33	11	0	11	544	5022	22	300	0	11	201	5556
1156	11	211	0	0	89	1467	2056	33	156	0	0	455	2700	4044	0	244	0	0	201	4489
2133	0	200	0	0	289	2622	1678	67	200	0	0	255	2200	4711	33	500	0	0	234	5478
3156	0	211	0	0	300	3667	900	0	133	0	0	134	1167	667	0	111	0	0	155	933
						845							1101							1550
III. Strahl:						1872	Mitte d. Gemelkes:						1357	Ende d. Gemelkes:						3950

1671 Kolonien, speziell 109 Coli- und Aërogenesstäbchen.

Ziege
mit Beigabe wie A.

III. Strahl							Mitte des Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
44	0	0	0	0	0	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
578	0	78	0	0	0	656	289	0	67	0	0	0	356	33	0	44	0	0	12	89
211	0	0	0	0	0	211	789	0	444	0	0	34	1267	111	0	11	0	0	0	122
1067	0	0	0	0	0	1067	11	0	0	0	0	0	11	33	0	0	0	0	0	33
						0							34							12
III. Strahl:						495	Mitte d. Gemelkes:						409	Ende des Gemelkes:						61

centimeter, speziell 6 Kolonien Aërogenes- und Colistäbchen.

ohne Beigabe.

III. Strahl							Mitte des Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
44	23	0	0	0	0	67	433	0	11	0	0	23	467	367	0	44	0	0	33	444
200	0	0	0	0	44	244	11	0	0	0	0	0	11	122	0	0	0	0	34	156
233	0	0	0	11	23	267	689	0	0	0	11	33	733	200	33	0	0	0	11	244
10	0	0	0	0	22	33	11	0	0	0	0	0	11	89	0	0	0	0	0	89
344	22	11	0	12	0	389	222	22	0	0	0	0	244	167	0	22	0	11	33	233
567	22	0	0	0	44	633	411	0	0	0	0	22	433	33	0	0	0	0	0	33

III. Strahl: 272 Mitte d. Gemelkes: 317 Ende des Gemelkes: 200
centimeter, speziell 16 Kolonien Aërogenes- und Colistäbchen.

F. Grasfütterung mit

Ziege	Zitze	Datum	I. Strahl							II. Strahl						
			1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
No. I	l.	19. 5.	11	0	22	0	0	0	33	567	0	22	0	0	44	633
„ I	r.	19. 5.	200	0	0	0	0	33	233	711	0	11	0	0	34	756
„ II	l.	19. 5.	578	0	22	0	0	67	667	1244	11	233	0	0	101	1589
„ II	r.	19. 5.	644	0	0	0	0	0	644	233	0	0	0	0	11	244
„ III	l.	19. 5.	467	0	11	0	0	66	544	500	11	33	0	34	0	578
„ III	r.	19. 5.	256	0	33	0	0	0	289	822	0	122	0	0	112	956
„ IV	l.	19. 5.	222	0	0	0	0	0	222	533	0	11	0	0	23	567
„ IV	r.	19. 5.	1644	0	167	0	0	22	1833	156	0	22	0	11	0	189
„ V	l.	19. 5.	344	0	22	0	0	23	389	144	0	0	0	0	0	144
Durchschnittszahlen			I. Strahl: 211 539							II. Strahl: 425 640						
Von 45 Proben durchschnittlich 567 Kolonien pro Kubik																

G. Stute.

Stute	Zitze	Probe	Zahl der Kolonien
No. I	r.	1	156
" I	r.	2	44
" I	l.	3	11
" I	l.	4	56
" II	r.	5	67
" II	r.	6	44
" II	r.	7	11
" II	l.	8	89
" II	l.	9	11
" II	l.	10	33

H. Hexenmilch.

Probe	Zitze	Zahl der Kolonien
1	l. r.	89 33
2	l. r.	433 217
3	l. r.	211 432
4	l. r.	356 197

unseren *Staphylococcus mastitis albus* und *aureus* (Guillebeau) recht gut in Einklang gebracht werden kann.

Backhaus und Appel (1) nennen als Hauptrepräsentanten der unter aseptischen Kautelen aufgefangenen Milch die Gruppe des *Bacterium acidilactici* (Hueppe), zu welchem 50—60 Proz. aller gewachsenen Kulturen gehören, eine Tatsache, die sich mit den Ergebnissen der Arbeiten Conn und Estens, sowie von Freudenreichs und auch der meinigen nicht deckt. In zweiter Linie werden von denselben Autoren Kokken genannt, welche zu 20 Proz. vorkommen sollen. Es war mir nicht möglich, dieselben mit den in Bern gefundenen Formen zu identifizieren. Somit besteht zwischen den Resultaten der Backhaus und Appelschen Arbeit und der vorliegenden ein nahezu umgekehrtes Verhältnis in betreff der gefundenen Keimarten, denn wir konnten in 90—95 Proz. aller Fälle Kokken und in nur 5—10 Proz. Stäbchen finden, Backhaus und Appel fanden dagegen 20 Proz. Kokken und 50—60 Proz. Stäbchen.

Wenn ich endlich an eine Vergleichung der von v. Freudenreich und Thöni (13) bei ihren Versuchen über „die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen

Küchenabfällen.

III. Strahl							Mitte des Gemelkes							Ende des Gemelkes						
1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.	1	2	3	4	5	6	Sa.
2233	33	167	0	11	89	2533	489	0	0	0	22	0	511	1000	22	0	0	0	67	1089
467	0	11	0	0	22	500	800	0	0	0	0	22	822	578	0	78	0	0	0	656
678	22	56	0	0	44	800	911	0	22	0	0	0	933	556	0	11	0	0	0	567
967	0	89	0	0	0	1056	933	0	0	0	0	0	333	456	0	44	0	0	11	511
811	0	144	0	0	223	1178	211	0	0	0	11	0	222	11	0	0	0	0	0	11
578	11	33	0	0	22	644	156	0	0	0	33	0	189	11	0	0	0	0	11	22
911	11	22	0	0	23	967	122	0	22	0	0	0	144	222	0	56	0	0	0	278
33	11	0	0	12	0	56	89	0	0	0	0	0	89	44	0	0	0	0	0	44
422	22	11	0	22	0	438	0	0	0	0	0	0	0	289	0	0	0	0	0	289
423							22							89						
III. Strahl:						912	Mitte d. Gemelkes:						360	Ende des Gemelkes:						385

centimeter, speciell 26 Kolonien Aërogenes- und Colistäbchen.

zu dem Käsereifungsprozesse“ gefundenen weißen und gelben verflüssigenden Kokken gehe, denn nur diese sind beschrieben, so ist zunächst der von mir beschriebene *Staphylococcus mastitis albus* (Guillebeau) wohl identisch mit den Varietäten a, b und c des Typus II und dem Vertreter des Typus III, denn es wurden sowohl Kolonien gefunden, welche, nachdem sie auf der Gelatineplatte tellerförmig eingesunken waren, sich bald krümelig auflösten, bald aber auch im Zusammenhange blieben. Von den gelben verflüssigenden Kokken (Typus I) dürften die Varietäten a und b mit dem von uns beobachteten *Staphylococcus mastitis aureus* Guillebeau übereinstimmen.

Zu den beigegebenen Tabellen über Morphologie und Biologie der gefundenen Milchbakterien möchte ich auf Grund einer persönlichen Mitteilung des früheren Assistenten am pathologischen Institute, Herrn Steiger, erklären, daß zwischen dem *Staphylococcus mastitis albus* und *aureus* Guillebeau eine gewisse Identität mit den von Steiger (Diss. Bern 1903) in dem Pansen der Wiederkäuer gefundenen Kokken 1—11, 15 und 12 herrscht.

Ein Blick auf diese Tabellen beweist, wie außerordentlich der Gehalt an Bakterien in den verschiedenen Portionen des Sekretes einer Drüse wechselt. Die Milch ist in der Tat in getrennten Mengen auf die verschiedenen Milchgänge verteilt. Die beträchtliche Erweiterung der Alveolen und die Abflachung des Epithels, die vor der Entleerung der Drüse so deutlich nachzuweisen sind, zeigen klar, daß das Sekret in diesen Hohlräumen zurückgehalten wird. Ein allmähliches Zusammenfließen und -mischen in der Cisterne zwischen zwei Melkzeiten kommt nicht vor und die Cisterne enthält bei nur wenigen Kühen Milch; in der Regel dürfte sie leer sein. In dem Geäste der Milchgänge wechseln bakterienfreie und bakterienreiche Bezirke miteinander und bei der Entleerung rückt der Inhalt bald dieses, bald jenes zur Zitzenöffnung vor, ohne daß vorher eine Durchmischung eingetreten wäre.

Bei den Ziegen sind ebenfalls große Unterschiede in den 3

ersten Strahlen nachweisbar. Auch bei diesem Tiere drängen die Verhältnisse zu der Annahme, daß die ersten Kubikcentimeter des zur Entleerung gelangenden Sekretes aus verschiedenen Gängen stammen müssen.

Entgegen der bis jetzt allgemein geglaubten Annahme ist der allererste Milchstrahl nicht der am meisten besiedelte; speziell kann von einem im Zitzenkanal der Milch vorgelagerten Bakterienpfropf nicht die Rede sein. Der Keimgehalt der ersten 2 ccm ist genau so wie derjenige aller folgenden Portionen abhängig von dem speziellen Keimreichtum desjenigen Milchganges, dessen Inhalt zufälligerweise zuerst entleert wird. Diese Tatsache beraubt die Annahme der aufsteigenden Infektion vom Zitzenkanale aus einer wichtigen Stütze und sie steht in nicht zu vermittelndem Gegensatz zu den Angaben von Backhaus und Appel, die in Königsberg in der ersten Portion des Gemelkes von 8 Versuchskühen durchschnittlich 552, in der zweiten 127, in der dritten 37 Keime zählten und am Schlusse desselben sogar bei 4 Tieren Bakterienfreiheit konstatierten. Auch sonst fällt bei der Vergleichung dieser Angaben mit meinen Tabellen der große Unterschied in der Zahl der Mikroorganismen auf, indem ihre Maximalzahl 950, die meinige 12044 pro Kubikcentimeter beträgt.

Meine Resultate, betreffend die Zahl der in der Milch gefundenen Keime stimmen mit denjenigen von von Freudenreich einigermaßen überein, doch fand derselbe im ganzen auch weniger Bakterien als ich.

Sobald aber die Mikroorganismen nach vollendetem Melken aus der Gesamtheit des Sekretes gezählt werden, treten im Vergleiche zu meinen Befunden überraschend große Verschiedenheiten auf, so fand z. B. Burri (4) Keimzahlen, die zwischen 3650 und 85980 schwankten, von Freudenreich (10) solche von 10000 bis 20000 pro Kubikcentimeter. Noch größer sind die Unterschiede, wenn die Milch schon längere Zeit in den Aufbewahrungsgefäßen gestanden hatte; so fand Uhl (20) in der Gießener Marktmilch durchschnittlich 20 Millionen Keime, Schuppan (18) ca. 1 Million, Sacharbekoff (16) in der Petersburger Milch sogar 16596000 pro Kubikcentimeter.

Der Umfang der Nachinfektion beim Melken und Auffangen in den Geschirren ist oft geradezu verblüffend.

Um über die Verunreinigung beim Melken ins Klare zu kommen wurde folgender Versuch angestellt: ich entnahm aus den 4 Zitzen einer Kuh Milchproben nach meiner Methode und unmittelbar nach dem Melken, solche aus Mischmilch und nach einer Stunde solche aus der zum Transport bereitstehenden Milch. Die Resultate waren folgende:

Versuch vom 30. Juni 1903.

Melken von abends 5 $\frac{1}{2}$ Uhr an.

Von den 4 Zitzen der Kuh Hirz enthält der III. Strahl:

Rechte Bauchzitze	981 Keime	Linke Bauchzitze	27 439 Keime
„ Schenkelzitze	1917 „	„ Schenkelzitze	4 118 „
durchschnittlich also 2440 Keime.			

Um 6 Uhr war das Melken fertig; die Mischmilch enthielt nun in der Probe No. 1 6715, in der aus demselben Gefäße stammenden Probe No. 2 4998 Keime.

Um 6 $\frac{1}{2}$ Uhr fuhr der Mann nach der Stadt, nachdem die Milch in ein besonders für den Transport bestimmtes Blechgefäß übergegossen worden war. Die entnommenen Proben enthielten: Probe No. 1 21789 Keime und Probe No. 2 eine bedeutend größere, deshalb nicht festzustellende Zahl, weil 0,09 ccm Milch ausgesäet worden war.

Die Artbestimmung der Keime, die in den sich folgenden Proben eines Gemelkes sich befinden, beweist, daß die einzelnen Bezirke auch ganz verschieden besiedelt sind; eine Art, die z. B. in einem Strahle in bemerkenswerter Zahl vorkommt, fehlt im folgenden ganz, und somit ist in dem Geäste der Milchgänge einer Drüse auch die Bakterienflora nach Bezirken eine verschiedene.

Das Gelingen dieses Nachweises ist um so bemerkenswerter, als eine wenn auch unvollkommene Mischung des Sekretes verschiedener Bezirke in der Cisterne doch nicht ganz vermieden werden kann, diese Mischung jedoch niemals zu einer vollkommenen Ausgleichung der Flora in den sich folgenden Strahlen zu führen im stande ist. Der Bakteriengehalt eines Drüsenbezirkes wird durch das Melken sehr stark vermindert; an eine vollständige Entfernung ist jedoch nicht zu denken und der Keimgehalt regeneriert sich zwischen zwei Melkzeiten wieder.

Der große Einfluß, den die Dauer des Aufenthaltes des Sekretes in den Milchgängen hat, offenbart sich schon in der Tabelle G, betreffend die Stutenmilch, denn das das Muttertier begleitende Fohlen sog häufig genug, um eine solche Stauung nicht zustande kommen zu lassen. Ein einfaches Experiment bei einer Kuh gab über diese Verhältnisse indessen noch klareren Aufschluß. Bei diesem Tiere wurde nach vollständigem Ausmelken in verschiedenen Perioden Proben zur Bakterienzählung entnommen. Folgende Tabelle gibt über das Ergebnis Auskunft:

Nach	Zahl der Keime	
	r. Bauchzitze	l. Bauchzitze
2 Stunden	22	65
4 „	365	221
6 „	400	230
8 „	112	217
12 „	897	1897
24 „	1217	2933

Im großen und ganzen beweist die Tabelle eine Zunahme der Keime bei längerem Aufenthalt des Sekretes in der Drüse. Die scheinbaren Ausnahmen, welche einige Resultate, wie z. B. in der r. Bauchzitze nach 8 Stunden, erscheinen nicht allzu wichtig, weil man weiß, wie auf jeden Fall die einzelnen Portionen eines Gemelkes ungleich mit Keimen besiedelt sind.

Einzelne Bakterienarten werden sicher zeitweilig aus Bezirken verschwinden, in denen sie längere Zeit vorhanden waren.

Die Einflüsse der Fütterungsarten auf den Bakteriengehalt der Milch sind in meinen Tabellen wenigstens angedeutet.

Vergleicht man A mit C, welche Tabellen sich auf dieselben Kühe beziehen, so hätte die Grasfütterung zu einer Vermehrung der Keime geführt (919:1671), während bei der Ziege die Vergleichung von D und E, deren Zahlen allerdings nicht bei demselben Viehstande gewonnen wurden, eine Abnahme der Keime bei Grünfütter (416:249) erkennen läßt. Von Einfluß könnte freilich auf die Tiere der Tabelle E auch der Umstand gewesen sein, daß sie nach Belieben junge an Harz und Gerbsäure reiche Baumstrauchzweige fressen konnten, die eventuell desinfizierend wirkten. Die Tiere der Tabelle A erhielten augenscheinlich weniger bakterienreiches Futter als diejenigen der Tabelle B, das Verhältnis der Keime war 919 zu 1391. In letzterem Falle war speziell auch die Zahl der Keime aus der Gruppe der Coli- und Aërogenes-Stäbchen auffallend groß. Dieselbe Zunahme bemerken wir ferner bei den Tabellen D und F (416:567) für die Ziegen, bei denen die Verfütterung von Küchenabfällen eine Zunahme der Stäbchen veranlaßte.

Vorliegende Arbeit wurde in dem veterinär-pathologischen Institute der Universität Bern auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Guillebeau ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Guillebeau für seine so überaus freundliche und liebenswürdige Fürsorge, sowie für das rege Interesse an meiner Arbeit meinen herzlichsten und innigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Backhaus und Appel, Ueber aseptische Milchgewinnung. (Molkereiztg. 1898. Heft 4.)
- 2) Barthel, Recherches sur les microorganismes de l'air des étables, du lait au moment de la traite et de la mamelle. (Revue générale du Lait. T. I. p. 505.)
- 3) Boekhout und de Vries, Ueber die Reifung des Edamer Käses. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. 1901. p. 817.)
- 4) Burri, Die Bakterienflora der frisch gemolkenen Milch gesunder Kühe. (Schweiz. landwirtsch. Centralb. Jahrg. XXI. Heft 11 u. 12.)
- 5) Conn, H. W., Classification of Dairy Bacteria. (From Report of the Storrs' Agricult. Exp. Stat. for 1899.)
- 6) — et Esten, Le développement comparatif des espèces microbiennes dans le lait. (Revue générale du Lait. 1901. p. 121.)
- 7) Duclaux, Principes de laiterie. p. 53.
- 8) —, Microbiologie. 1883. p. 60.
- 9) Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft. p. 91.
- 10) v. Freudenreich, Bakteriologie in der Milchwirtschaft. 1898.
- 11) —, Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. (Landwirtsch. Jahrb. der Schweiz. 1903. Heft 3.)
- 12) —, Milchsäurefermente und Käsereifung. (Ibid. 1902. Heft 2.)
- 13) — und Thöni, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse. (Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. X. 1903. No. 10.)
- 14) Guillebeau, Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei Rindern und Ziegen. (Landwirtsch. Jahrb. der Schweiz. Bd. IV. 1890.)
- 15) Larsen, Ueber Scheidewände in den Zitzen der Rinder und deren Behandlung. (Maanedskrift for Dyrlaeger. 1892/93. Bd. IV. p. 257.)

- 16) Sacharbekoff, Zur Bakteriologie der Petersburger Milch. (Inaug.-Diss. Petersburg 1895.)
- 17) Schulz, Ueber den Schmutzgehalt der Würzburger Marktmilch und die Herkunft der Milchbakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XIV. p. 260.)
- 18) Schuppan, Die Bakteriologie in ihrer Beziehung zur Milchwirtschaft. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. p. 527.)
- 19) Stohmann, Milch und Molkereiprodukte. 1898.
- 20) Uhl, Untersuchungen der Marktmilch in Gießen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XII. p. 475.)
- 21) Ward, Die Invasion des Euters durch Bakterien. (Veröffentl. im Bull. 178. Cornell Univ. Agricult. Exp. Stat.)

Nachdruck verboten. .

Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern.

Von cand. med. **Oscar Adler.**

(Schluß.)

III. Einige Beobachtungen über *Gallionella ferruginea*¹⁾.

Gallionella ferruginea Ehrenberg.

Synonyme: *Gloeotila ferruginea* Kützing.

Gloeosphaera ferruginea Rabenhorst.

Spirillum ferrugineum Hansgirg.

Spirulina ferruginea Kirchner.

Spirochaete ferruginea nob. olim.

Chlamydothrix ferruginea (Ehrenberg) Migula.

Literatur über *Gallionella ferruginea* Ehrenberg.

- Ehrenberg, Poggendorfs Annalen; II. Reihe. Bd. VIII. 1836. p. 217.
Kützing, Species Algarum. 1849. p. 363.
Griffith, Ann. and. Mag. of nat. hist. Ser. II. Vol. XII. p. 438.
Rabenhorst, Hedwigia. 1854. p. 43.
Mettenheimer, Abh. d. Senckenberg. naturh. Ges. Bd. I. p. 139.
Kirchner, Algen, Kryptogamenflora von Schlesien. 1879. p. 250.
Hansgirg, Prodrum der Algenflora von Böhmen. T. II. 1892. p. 189.
—, Prodrum der Algenflora von Böhmen. II. 1893. p. 184.
Migula, Ueber *Gallionella ferruginea* (Ehrenberg), Berichte der Deutschen bot. Ges. Bd. XV. 1897. p. 321.
—, System der Bakterien. Bd. I. 1897. p. 351.

Morphologie der *Gallionella ferruginea*. In Bezug auf die Morphologie der entwickelten Formen kann ich mich den Angaben von Migula²⁾ im wesentlichen anschließen. Nur in einigen Punkten stimmen meine Beobachtungen mit denen von Migula nicht überein. So konnte ich z. B. im Gegensatze zu ihm (System d. Bakt. 1897) niemals das Vorhandensein einer Scheide mit Sicherheit beobachten, weder in frischen Präparaten, noch nach mehrtägiger Einwirkung von Jodtinktur oder Chlorzinkjodlösung. Doch will ich die Möglichkeit nicht bestreiten, daß bei Anwendung

1) Einen Teil der Versuche mit *Gallionella* habe ich an der Eisenquelle in Karlsbad gemacht. Diese Versuche reihen sich daher ergänzend an die Beobachtungen im pflanzenphys. Institute der k. k. deutschen Universität in Prag an.

2) l. c. p. 321 f.

anderer Methoden eine Andeutung einer solchen noch nachgewiesen werden könnte.

Betreffs der Entwicklung der Jugendformen der *Gallionella* bestehen bisher keine sicheren Beobachtungen. Was die Größe dieser Jugendformen betrifft, ist als sicher anzunehmen, daß dieselben Bakterienfilter nicht zu passieren vermögen; denn im Wasser der Karlsbader Eisenquelle, in dem sonst stets die *Gallionella* aufgeht, lassen sich, nachdem dasselbe durch ein Berkefeld-filter filtriert wird, diese Organismen nicht mehr nachweisen.

Wachstum der *Gallionella ferruginea*. Ueber das Wachstum dieses Organismus habe ich in meinen beiden Mitteilungen¹⁾ über biologische Untersuchungen von natürlichem Eisenwasser berichtet.

Zu meinen Versuchen diente wiederum das Wasser der Eisenquelle in Karlsbad, doch wurden auch die anderen Fundorte der *Gallionella* berücksichtigt.

Im frischen Wasser der Karlsbader Eisenquelle kommen die entwickelten, typischen Formen der *Gallionella* nur sehr spärlich vor, wovon ich mich mehrmals dadurch überzeugte, daß ich an das Ausflußrohr der Quelle ein dichtes Wattefilter anbrachte und nachher den Filtrerrückstand untersuchte. Selbst bei einstündiger Filtration ist die Ausbeute an diesen Organismen nur eine relativ geringe. Untersucht man das frische Wasser direkt mikroskopisch, so findet man unter Umständen erst in einer großen Reihe von Präparaten eine typische, entwickelte Form der *Gallionella*.

Auch nach dem Zentrifugieren des Wassers ergibt die Untersuchung im wesentlichen kein anderes Resultat.

Ganz anders aber gestaltet sich die Untersuchung, wenn man das Wasser 3—4 Tage bei Zimmertemperatur stehen läßt.

Schon bei der Betrachtung mit freiem Auge nehmen wir dann reichliche Flocken wahr, die sich nach einiger Zeit zu Boden senken. Hand in Hand mit der Flockenbildung fällt ein Niederschlag von Eisenoxydhydrat aus. Die mikroskopische Untersuchung der Flocken ergab stets das massenhafte und fast ausschließliche Vorhandensein von *Gallionella ferruginea*.

Nebenher bemerkt man auch an den Wänden der Flaschen ganz eigentümliche, zirkumskripte, braungelbe Anlagerungen mit einer dunklen, zentralen und einer helleren, peripheren Zone.

Ursprünglich war ich der Meinung, daß diese eigenartigen Wandanlagerungen durch die Anwesenheit der *Gallionella ferruginea* hervorgerufen würden. In der Tat findet man bei der mikroskopischen Untersuchung der Glaswände die *Gallionella* ziemlich reichlich am Glase haften. Ich habe aber nachher die Ueberzeugung gewonnen, daß diese Anlagerungen denn doch nichts mit der *Gallionella* zu tun haben. Daß aber andere sich mit Eisen inkrustierende Mikroorganismen bei der Bildung dieser zirkumskripten Wandanlagerungen beteiligt sein dürften, ist aus dem Grunde wahrscheinlich, weil ein entsprechender Zusatz eines (in Bezug auf die chemischen Bestandteile des Eisenwassers möglichst indifferenten) Antiseptikums (Kampfer, Alkohol) die Bildung dieser charakteristischen Anlagerungen gänzlich verhindert.

1) l. c.

Um nun mit Sicherheit nachzuweisen, daß sich die *Gallionella* in den abgefüllten Flaschen vermehrt, und um dem Einwand zu begegnen, daß bei der mikroskopischen Untersuchung des frischen Wassers die darin suspendierten Organismen etwa übersehen würden, wurde eine frisch gefüllte Flasche mit einem Ueberschuß von Ammoniak versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde hierauf untersucht: *Gallionella* war mikroskopisch nicht nachweisbar.

Auch dieser Versuch spricht für die eingangs erwähnte Behauptung, daß die *Gallionella* im frischen Wasser nur sehr spärlich vorkommt.

Berücksichtigt man nun die Tatsache, daß dieser Organismus nach mehrtägigem Stehen des Wassers massenhaft im Niederschlage nachweisbar ist, so ergibt sich daraus der Schluß, daß sich die *Gallionella ferruginea* in den abgefüllten Flaschen ganz außerordentlich vermehrt.

Uebrigens ergibt auch die Einimpfung dieser Organismen in Eisenquellwasser, das durch vorsichtiges Sterilisieren¹⁾ ($\frac{1}{2}$ Stunde im Wasserbade von 70°) für längere Zeit haltbar gemacht wurde, eine mit Niederschlagsbildung einhergehende, deutliche Vermehrung der *Gallionella*, während der Zustand der nichtbeimpften, sterilisierten Kontrollflasche in der Beobachtungszeit unverändert bleibt.

Bisher haben wir das Wachstum der *Gallionella* nur in dem aus der Eisenquelle selbst stammenden Wasser betrachtet. Es lag nun der Gedanke nahe, das Wachstum dieser Organismen auch in den verschiedenen, für Kulturversuche gebräuchlichen Nährlösungen resp. Nährböden zu studieren und event. ein Nährsubstrat ausfindig zu machen, das für die Kultur dieser Organismen die günstigsten Bedingungen bietet.

Ohne auf nähere Details einzugehen, will ich kurz berichten, daß ich die verschiedensten Nährlösungen und Nährböden in Verwendung gezogen habe. Auch Nährlösungen, die in ihrer chemischen Zusammensetzung dem natürlichen Eisenquellwasser recht nahe kamen: alles ohne Erfolg; die *Gallionella* war in keinem künstlich hergestellten Nährsubstrat zu deutlichem Wachstum zu bringen.

Aus Gründen, die in einem späteren Abschnitt näher besprochen werden, habe ich dem Einfluß von antiseptischen Stoffen auf das Wachstum der *Gallionella* meine Aufmerksamkeit zugewendet. Insbesondere wurden jene Antiseptika in ihrer Wirkung des genaueren studiert, welche sich in Bezug auf die chemischen Bestandteile des Wassers möglichst indifferent verhalten: Kampfer, Alkohol, Formaldehyd, Antipirin, Chinin, Sublimat.

Dagegen konnten z. B. Wasserstoffsuperoxyd, Merkuronitrat u. a. aus dem erwähnten Grunde nicht in Anwendung gezogen werden.

Es ergab sich nun, daß entsprechende Mengen der Antiseptika das Wachstum der *Gallionella* vollkommen vernichten; zu-

1) Adler, l. c.

gleich bleibt die mit der Entwicklung dieser Organismen einhergehende Niederschlagsbildung von Eisenoxydhydrat für längere Zeit aus.

Auch unterbleibt dauernd, wie erwähnt, die Bildung der früher geschilderten Wandanlagerungen.

Eisenspeicherung der Gallionella. *Gallionella ferruginea* hat die Fähigkeit, sich mit Eisenoxydhydrat zu inkrustieren. Das inkrustierte Eisen läßt sich mit Leichtigkeit mit Hilfe der Berlinerblauprobe mikrochemisch nachweisen. Die Eisenproben wurden angestellt im Sinne der Angaben von Molisch¹⁾, wobei die diesbezüglich angegebenen Kautelen stets berücksichtigt wurden.

Untersuchen wir ein Flöckchen der *Gallionella* aus einer frischen (etwa 48-stündigen) Kultur unter dem Mikroskope, so finden wir die Fäden und Zöpfe der *Gallionella* ganz blaß und farblos. Nur hier und da sieht man ein Klümpchen von Eisenoxydhydrat, das in das Gewirr der Organismen eingelagert ist.

Untersuchen wir dieselbe Kultur nach einigen Tagen, so zeigen die früher blassen Zöpfe und Fäden nunmehr einen gelblichen Farbenton und streckenweise auch deutliche Inkrustation von Eisenoxydhydrat. Dasselbe ist auch reichlich in das Flechtwerk der Organismen eingelagert, so daß die Flocken auch schon mit freiem Auge deutlich rostfarbig erscheinen.

Was den erwähnten gelben Farbenton anlangt, so verweise ich auf eine Beobachtung von Ferd. Cohn²⁾ bei *Crenothrix polyspora*, der in den Scheiden dieses Organismus einen gelben, öartigen Farbstoff annimmt. Was die *Gallionella* betrifft, so habe ich keinen Grund zur Annahme, daß es sich hier um einen „Farbstoff“ handelt. Ich glaube vielmehr, daß die gelbe Färbung durch Spuren von gespeichertem Eisen hervorgerufen wird; solche gelblichen Fäden und Zöpfe ergeben eine ungemein intensive Eisenreaktion, während die blassen Formen aus jungen Kulturen nur eine schwache Blaufärbung bei der Eisenprobe ergeben.

Uebrigens habe ich bei *Crenothrix polyspora* aus Prager Leitungswasser die Gelbfärbung der Scheiden niemals beobachten können.

Zu konstatieren ist, daß in den abgefüllten Flaschen der Karlsbader Eisenquelle, in denen *Gallionella* nahezu in Reinkultur vorkommt, nicht etwa die Hauptmasse des den Niederschlag bildenden Eisenoxydhydrats von der *Gallionella* gespeichert wird, sondern daß nur ein kleiner Teil desselben als Inkrustation der *Gallionella* vorkommt, ein weiterer Teil in kleinen Klümpchen in das Gewirr der Organismen eingelagert ist, der größte Teil des Niederschlages aber scheinbar mit der *Gallionella* gar nichts zu tun hat.

Doch besteht, wie wir später ausführen wollen, eine Beziehung dieses letzteren, die Hauptmasse bildenden Teiles zu dem Wachstum der *Gallionella ferruginea*.

Uebrigens findet sich die *Gallionella* in den verschiedenen Wässern nicht gleich stark inkrustiert, so zeigt z. B. die *Gallionella* aus der Rudolfsquelle in Sangerberg (Böhmen) oder in dem

1) Molisch, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena (G. Fischer) 1902. p. 1—3.

2) Cohn, l. c. p. 119.

Eisenwasser von Vals Saint Jean (Frankreich) viel stärkere Inkrustationen, als in der Eisenquelle von Karlsbad.

Nach ihrer Fähigkeit, sich mit Eisenoxydhydrat zu inkrustieren, stehe ich nicht an, nach dem Vorgange von Migula der *Gallionella ferruginea* einen Platz anzuweisen in jener Gruppe von Organismen, welche Winogradsky in Anbetracht ihres physiologischen Verhaltens als Eisenbakterien bezeichnet hat.

Verbreitung der *Gallionella*. Nach den Angaben von Migula kommt *Gallionella* in der Natur nicht häufig vor und fast stets zusammen mit *Leptothrix ochracea*. Diesbezüglich schreibt Migula in seiner Abhandlung¹⁾ über *Gallionella*: „Ich habe *Gallionella ferruginea* nur einmal in größerer Menge in einem eisenhaltigen Torfwasser bei Trebnitz gefunden²⁾.“

Ehrenberg dürfte eine große Verbreitung dieses Organismus angenommen haben, da er der *Gallionella* einen Hauptvorteil an der Bildung des Raseneisenerzes zuschreibt, was Migula eben wegen der mangelnden Häufigkeit dieses Organismus bestreitet.

Ich selbst stehe auf dem Standpunkte, daß *Gallionella ferruginea* ein in der Natur häufig vorkommender und weitverbreiteter Organismus ist.

Daß wir die *Gallionella* bei der Untersuchung von Raseneisenerzen kaum finden werden, erscheint begreiflich, da dieser Organismus keine Scheide besitzt und demnach keine so wohl ausgebildeten Inkrustationen bildet wie etwa *Leptothrix ochracea*; überdies sind die *Gallionella*-Fäden bei der — oft kaum entbehrlichen — Behandlung mit hochprozentiger Salzsäure überaus leicht löslich.

Ich habe die *Gallionella ferruginea* bei der Untersuchung von 41 — meist im Handel befindlichen und zu therapeutischen Zwecken verwendeten — natürlichen Eisenwässern in den abgefüllten Flaschen von 12 Quellen konstant gefunden. (In der Prozentzahl ausgedrückt: 29,2 Proz. der untersuchten Quellen.)

Cladothrix dichotoma fand ich zweimal (4,8 Proz.), *Leptothrix ochracea* einmal (2,4 Proz.); niemals *Crenothrix polyspora* (0 Proz.).

Von den erwähnten 12 Fundorten der *Gallionella* gehören 7 zu Oesterreich:

Ambrosiusbrunnen in Marienbad, Prälatenquelle in Marienbad, Rudolfsquelle in Sangerberg, Kaiserquelle in Johanniskbad, Klausenquelle in Gleichenberg, Eisenquelle in Karlsbad, Roter Sauerling bei Karlsbad.

4 zu Deutschland: Elisabethquelle im Homburg, Weinbrunnen und Stahlbrunnen zu Schwalbach, Oberbrunnen in Flinsberg.

1 zu Frankreich: Eau minérale naturelle de Vals (St. Jean, Ardèche).

In einigen Fällen fand ich *Gallionella* nahezu in Reinkultur (Eisenquelle in Karlsbad, Elisabethquelle in Homburg etc.).

1) Migula, Ueber *Gallionella ferruginea* Ehrenberg. (Berichte d. deutschen bot. Ges. 1897. p. 321 ff.)

2) Später schreibt Migula über *Gallionella ferruginea*: Ausschließlich in eisenhaltigen Wässern, nicht häufig, aber weit verbreitet. (Syst. d. Bakt. 1900.)

Einmal fand ich sie in Gemeinschaft mit *Leptothrix ochracea* und *Cladothrix dichotoma* (Kaiserquelle in Johannisbad).

Migula erwähnt das Vorkommen der *Gallionella* in der Gegend von Trebnitz und ferner in einer Quelle in Homburg. In Böhmen waren bisher nach Hansgirg³⁾ nur 2 Fundorte bekannt: ein Sumpf bei Püllna nächst Brüx, ferner bei Sulowitz nächst Lobositz.

Außer in den erwähnten Eisenquellen fand ich *Gallionella* in der Umgebung von Karlsbad, so in einem kleinen Tümpel bei „St. Leonhardt“ nahezu in Reinkultur, in einem Wasserlauf am Rande des Weges vom „Holzplatz“ zum Bahnhof Aich, in einem Wasserlaufe vom „Echo“ zu „St. Leonhardt“, in einem Tümpel bei „Kleinversailles“. In den 4 Fundorten fand sich *Leptothrix* nicht vor.

In Gemeinschaft mit *Leptothrix* fand ich die *Gallionella* in einem mir zugesendeten Wasser von Slup (bei Prag), ferner in einem eisenhaltigen Wasser aus der Gegend von Teletin und aus Neustupow (bei Wottitz, Böhmen).

Ich zweifle nicht daran, daß sich bei darauf gerichteter Aufmerksamkeit die Zahl der Fundorte der *Gallionella* außerordentlich vermehren wird. Zum Studium der typischen Formen dieses Organismus sind die Niederschläge aus den angeführten, zumeist käuflich leicht erhältlichen Eisenwässern recht gut geeignet.

IV. Die mangelnde Haltbarkeit der natürlichen Eisenwässer. (Mit besonderer Berücksichtigung der *Gallionella ferruginea*.)

In den kohlensauen Eisenwässern ist das Eisen enthalten in Form des Eisenoxydulkarbonates. Bis vor etwa 2 Jahren erklärte man die mangelnde Haltbarkeit der natürlichen Eisenwässer durch die Annahme, daß beim Füllen und Aufbewahren der Flaschen ein Teil der Kohlensäure ausströme, was ein Ausfallen des Eisens in Form des Eisenoxydhydrats zur Folge hätte.

Für die Praxis der Versendung der zu therapeutischen Zwecken verwendeten Eisenwässer ergab sich hieraus die wichtige Konsequenz, das Entweichen der Kohlensäure aufs peinlichste zu vermeiden. Aber trotz aller Vorsichtsmaßregeln blieben die Resultate bei vielen zur Versendung gelangenden Eisenwässern dauernd ungünstige. Ja, es kam sogar so weit, daß die Versendung der kohlensauen Eisenwässer direkt in Frage gestellt wurde.

Trotz aller ungünstigen Erfolge erfreute sich die herrschende Ansicht über die mangelnde Haltbarkeit der Eisenwässer so lange allgemeiner Anerkennung, bis insbesondere zwei Beobachtungen vorlagen, die deutlich darauf hinwiesen, daß neben dem erwähnten Faktor noch andere Momente für das Ausfallen des Eisens in Betracht kommen.

1) Es besteht keine prozentische Uebereinstim-

1) Hansgirg, Prodrumus l. c. p. 189.

nung zwischen dem Ausfallen des Eisens und dem Verluste an Kohlensäure [Binz¹⁾].

2) Durch Zusätze von Stoffen, welche das Wachstum von Mikroorganismen verhindern, wird die Haltbarkeit der natürlichen Eisenwässer wesentlich erhöht [Adler²⁾].

Der letzterwähnte Punkt gibt uns einen Fingerzeig in der Richtung, daß neben den rein chemischen auch biologische Momente bei dem Ausfallen des Eisens in den natürlichen Eisenwässern eine hervorragende Rolle spielen. Die hier in Betracht kommenden Tatsachen habe ich in meinen beiden erwähnten Mitteilungen auseinandergesetzt, und es erübrigt nur noch, die dort vertretene Ansicht in einigen Punkten zu erweitern.

In den rostbraunen Niederschlägen des Wassers in der Karlsbader Eisenquelle fand ich bei meinen damaligen Versuchen konstant einen Mikroorganismus, dessen Namen mir damals nicht bekannt war; es handelte sich um die von Ehrenberg entdeckte, aber erst von Migula in Bezug auf die morphologischen Charaktere genauer beschriebene *Gallionella ferruginea*.

Bei meinen Versuchen kam es in erster Linie darauf an, solche antiseptische Stoffe zu verwenden, welche sich in Bezug auf die chemischen Bestandteile des Eisenwassers speziell auf das gelöste Eisenoxydulbikarbonat möglichst indifferent verhalten.

Als ein derartiges Antiseptikum habe ich in erster Linie den Kampfer verwendet, ferner Alkohol, Antipirin, Chinin, Formaldehyd, Sublimat.

Es gelang nun stets mit Sicherheit, durch Zusatz eines der erwähnten Antiseptika das Ausfallen des Eisens im Karlsbader Eisenquellwasser durch mehrere Wochen hintanzuhalten. Dagegen findet sich im Wasser der ohne Zusatz gehaltenen Kontrollflaschen schon nach 4—5 Tagen fast das ganze Eisen in Form eines Niederschlages von Eisenoxydhydrat am Boden und an den Wänden des Gefäßes.

Es handelt sich also bei dem Ausfalle des Eisens in den abgefüllten Flaschen der Karlsbader Eisenquelle um einen Prozeß, der auch ohne Beteiligung von Mikroorganismen innerhalb einer bestimmten Zeit vor sich geht. Dieser langsam vor sich gehende Prozeß erfährt durch die Anwesenheit der *Gallionella ferruginea* eine erhebliche Beschleunigung.

Ob dieselbe etwa durch eine alkalische Reaktion, die die Organismen hervorrufen, oder durch die Ausscheidung eines bestimmten Stoffes (vielleicht einer Oxydase) bedingt wird, vermag ich nicht zu sagen, da meine diesbezüglichen Untersuchungen zu keinem sicheren Resultate geführt haben.

Wir wissen, daß die alkalische Reaktion einer Flüssigkeit hinreicht, um das in derselben gelöste Eisen auszufällen. Nun ist es bekannt, daß gewisse Algen³⁾ die Nährlösung, in der sie wachsen,

1) Binz, C., Deutsche mediz. Wochenschrift. 1901. No. 14. p. 212 f.

2) l. c.

3) Vergl. Hassak, Ueber das Verhältnis von Pflanzen zu Bikarbonaten und über Kalkinkrustation. (Unters. aus d. bot. Inst. zu Tübingen. II. 1886—88. p. 465.)

V. Tabellarische Uebersicht über die in Eisenwässern vorkommenden Organismen.

Quelle	Art des Wassers	Niederschlag	Anlage- rungen an der Glas- wand	Mikroskopischer Befund	Bemerkungen
Klausenquelle Gleichenberg	eisenh. Säuerling	+	—	Gallionella ferruginea	
Eau minérale naturelle de Vals St. Jean	alk. Eisensäuerling	+	—	"	
Elisabethbrunn Homburg	eisenh. Kochsalzquelle	+	+	"	
Ambrosiusbrunn Marienbad	reiner Eisensäuerling	+	+	"	
Prälatenquelle Marienbad	eisenh. Säuerling	+	+ sp.	"	
Oberbrunn Flinsberg	kohlens. Eisenwasser	+	—	"	
Rudolfsquelle Sangerberg	"	+	+ sp.	"	
Weinbrunn Schwalbach	alk. Eisensäuerling	+	+	"	
Stahlbrunn Schwalbach	"	+	+	"	
Kaiserquelle Johannisbad	"	+	—	"	Nicht im Versand
Eisenquelle Karlsbad	kohlens. Eisenwasser	+	+	Leptothrix ochracea	
Roter Säuerling Drahowitz (bei Karlsbad)	kohlens. Eisenwasser	+ flockig	+ sp.	Cladotrix dichotoma	"
Guberquelle Srebenica (Bos- nien)	schwefels. Arsen-Eisenwasser	+ sp. hell- gelbe Flocken	—	Gallionella ferruginea	"
Roncegno	"	+	—	"	"
Levico (Schwachwasser)	"	+ sp.	—	inkrustierte Mycelfäden	
Mitterbad	"	+ sp.	—	Cladotrix dichotoma	
Coutrexéville	"	+ sehr sp.	—	spärlich. Mycelfäden	
Driburg	schwach-eisenhaltiger ling	+ sehr sp.	—	spärlich. Mycelfäden	
Josefsquelle Rippoldsau	kohlens. Eisenwasser	+ sehr sp.	+ sp.	Mycofäden	
	"	+	—	Pilzhypen und inkr. Fäden	
	"			inkr. Pilzhypen, Pilz- sporen	Nach Behandlung mit Salz- säure massenhaft Bak- terien im Niederschlag nachweisbar

Leopoldsquelle Rippoldsau Wenzelsquelle Rippoldsau	kohlens. Eisenwasser "	+	+	—	—	—	Nach Behandlung mit Salz- säure massenhaft Bak- terien im Niederschlag nachweisbar
Eau minérale naturelle de Spa (Pouhon)	alk. Eisensäuerling	+	—	—	—	Oscillarien	
Friedrichsquelle Dorna	eisenh. Säuerling	+	—	—	—	inkr. Fäden	
Tempelquelle Steben	kohlens. Eisenwasser	+ sp.	+	—	—	" "	Nach Behandlung mit Salz- säure massenhaft Bak- terien im Niederschlag nachweisbar
Liebenstein Eau acidule ferrugineuse d'Orezza (Corsica)	erdig-salinische Eisenquelle kohlens. Eisenwasser	+	+	—	—	" "	
Wiesenquelle Franzensbad Hauptquelle Pyrmont	eisenh. Glaubersalzwasser salinischer Eisensäuerling	+	+	—	—	strauchartige Inkrusta- tionen spärlich inkr. Fäden	
Source Lucius a Tarasp (Schweiz)	Natron-Eisensäuerling	+	—	—	—	Inkrustationen strauchartige Inkrusta- tionen	
Cartellierquelle Franzensbad	kohlens. Eisenwasser	+	—	—	—	—	
Ferdinandsbrunn Marienbad	eisenh.-alk. salin. Quelle	+	—	—	—	—	
Waldquelle Marienbad	alk.-salin. Säuerling	+	—	—	—	—	
Rudolfsquelle Marienbad	alk.-erdig. Eisensäuerling	+	—	—	—	—	
Constantinquelle Gleichenberg	alk.-muriat. Säuerling	+	—	—	—	—	
Georg Viktorquelle Wildungen	eisenh. Säuerling	+ sp.	+	—	—	—	
Helenenquelle Wildungen	eisenh.-alk. salin. Sauerbrunn	+ sp.	+	—	—	—	
Alfredsquelle Marienbad	eisenh.-alk. salin. Quelle	+	+	—	—	—	Nach Behandlung mit Salz- säure Bakterien nach- weisbar.
Alexandrinenquelle Marienbad	eisenh. alk.-salin. Quelle	+	—	—	—	—	
Johannisbrunn Gleichenberg	alk.-muriat. Eisensäuerling	+ flockig	—	—	—	—	
Ulrichsquelle Val Sinestra (Schweiz)	Borsäure-Arsen-Eisenwasser	—	—	—	—	—	

Zeichenerklärung: + vorhanden; — nicht vorhanden resp. nicht nachweisbar; sp. spärlich.

alkalisch zu machen vermögen. Eine derartige Alkaleszenz würde vollkommen hinreichen, um die Bildung eines Niederschlages von Eisenoxydhydrat in einem kohlensauren Eisenwasser zu erklären.

Bei gewissen Algen „erklärt Hanstein die Eisenablagerung mit der Annahme, daß die nach Kohlensäure gierigen Algen den im Wasser gelösten Spateisenstein aufnehmen, die Kohlensäure desselben an sich reißen und das mittelst des frei werdenden Sauerstoffs oxydierte Eisen wieder abscheiden“ ¹⁾.

Diese Ansicht, welche für gewisse chlorophyllführende Algen gelten kann, wird für die *Gallionella* nicht in Betracht kommen.

Wenn ich also nicht in der Lage bin, eine vollkommen befriedigende Erklärung über die Ursachen des Ausfallens des Eisens in den natürlichen Eisenwässern zu geben, so hoffe ich doch, daß auf Grund der von mir beobachteten Tatsachen durch spezielle auf diesen Gegenstand gerichtete Untersuchungen Aufklärung erfolgen dürfte.

Sobald wir einmal volle Klarheit haben werden über die Ursachen der mangelnden Haltbarkeit der natürlichen Eisenwässer, dann ist es vielleicht nicht ausgeschlossen, daß wir auch die Mittel finden werden, diesen Mangel zu beheben.

Antiseptische Zusätze, wie sie im Laboratoriumsexperimente angewendet werden, sind für die Praxis selbstverständlich ausgeschlossen. Auch glaube ich, daß der von mir seinerzeit angegebenen Sterilisation durch Erhitzen der abgefüllten Flaschen in der Praxis große Schwierigkeiten gegenüberstehen; eher wäre an ein Keimfreimachen durch eine entsprechende Filtration zu denken, doch dürfte dieselbe nicht durch Herstellung eines Vakuums über dem Filtrate, sondern mußte durch Druck erfolgen, da ja ein Entweichen der Kohlensäure streng vermieden werden muß.

Die vorstehende Tabelle soll einen Ueberblick geben über die Resultate meiner Untersuchungen der abgefüllten Flaschen von natürlichen, zumeist im Handel befindlichen und zu therapeutischen Zwecken verwendeten Eisenwässern.

Anmerkungen zur Tabelle.

Bei der Beurteilung der vorstehenden Zusammenstellung darf nicht vergessen werden, daß es sich — von einigen Ausnahmen abgesehen — nicht um eine Untersuchung der Quellen selbst, sondern um die Untersuchung der abgefüllten, meist im Handel befindlichen Wässer handelt. Dementsprechend habe ich zufälligen und vereinzelt Befunden keinen großen Wert beigemessen und nur dann einen Befund berücksichtigt, wenn er sich in der Mehrzahl der untersuchten Flaschen einer Quelle ergab.

Im ganzen wurde das Wasser aus 41 Quellen untersucht. Hiervon zeigten 40 Quellen einen Niederschlag, der bei den kohlensauren Wässern der Hauptmenge noch aus Eisenoxydhydrat bestand. Bei 21 Quellen zeigten die abgefüllten Flaschen außerdem fest anhaftende Anlagerungen von Eisenoxydhydrat an den Glaswänden.

¹⁾ Zitiert aus Molisch, „Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen“. Jena (G. Fischer) 1892. p. 20.

Bei 25 Quellen konnten bei der mikroskopischen Untersuchung des Niederschlages konstant Organismen nachgewiesen werden. Außerdem wurde bei einer Anzahl von Quellen der Niederschlag nach Behandlung mit Salzsäure bei starker Vergrößerung auf das Vorhandensein von Bakterien untersucht und es wurden tatsächlich mehrmals massenhaft Bakterien (Stäbchen) entweder direkt oder nach vorhergehender Färbung im Niederschlage nachgewiesen. Von einer bakteriologischen Untersuchung nach den üblichen Methoden wurde abgesehen, da dies den Rahmen der Arbeit überschritten hätte.

Bei 12 Quellen ergab die mikroskopische Untersuchung konstant das Vorhandensein der *Gallionella ferruginea*. Von den übrigen Eisenbakterien fand sich in zwei Quellen *Cladothrix dichotoma*, einmal *Leptothrix ochracea*. Dieser Befund ist auffallend, einerseits wegen der großen Verbreitung der *Gallionella ferruginea*, andererseits wegen des geringen Vorkommens der *Leptothrix* und *Cladothrix* in den abgefüllten Flaschen der natürlichen Eisenwässer.

Pilzhypen fanden sich bei der Untersuchung des Niederschlages von 7 Quellen; meist war der Niederschlag von den Pilzfäden ganz durchsetzt. Eine nähere Bestimmung wurde, da Fruktifikationserscheinungen fehlten, nicht versucht.

In einer Anzahl von Fällen habe ich mich mit der Bezeichnung „inkrustierte Fäden“ begnügen müssen. Das erscheint begreiflich, wenn man bedenkt, daß es sich um inkrustierte Gebilde aus meist mehrere Monate alten Wässern handelte, so daß von einer Diagnostizierung etwa auf dem Wege des Kulturversuches kaum die Rede sein konnte.

Pflanzenphysiologisches Institut der k. k. deutschen
Universität zu Prag.

Nachdruck verboten.

Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer.

[Aus dem hygienischen Institute der kgl. Universität Bologna.
Direktor: Prof. Dr. G. Sanarelli.]

Von Dr. med. **Guido Q. Ruata**, Assistenten am Institute.
(Schluß.)

Die zarte Seite dieser Methode, sagt Miquel, besteht in der Wertbestimmung des Titers der Verdünnung. Die sehr reinen Wässer wird man entweder gar nicht verdünnt aussäen oder nur unter schwachen Verdünnungen. Wenn man Wässer analysiert, welche schon aus einer langen früheren Erfahrung bekannt sind, wird die angemessene Verdünnung bald abgeschätzt sein; wenn aber die Wasserprobe unbekannter Natur ist, ist es unvermeidlich, Präliminarversuche anzustellen oder, einfacher, Verdünnungen zu verschiedenen Titern vorzunehmen.

Die Methode von Miquel unterdrückt also die den anderen Methoden gemeinen Widerwärtigkeiten, welche vom übermäßigen

Keimreichtum, der die Zählung erschwert und oft unmöglich macht, und zu gleicher Zeit von der Entwicklung einer solchen Anzahl von verflüssigenden Keimen abhängen, wodurch die Zählung alsbald eingestellt werden muß und sich so die Ursachen zum Irrtume vermehren.

Praktisch bietet aber diese Methode folgende Fehler dar:

1) Da man die verschiedenen Verdünnungen 1:99, 1:499, 1:999 vornehmen muß, wird eine solche Mannigfaltigkeit an Gefäßen verlangt, eine Reichlichkeit an Material, eine Freigiebigkeit an Sterilisierungsmitteln erfordert, die nicht in allen Laboratorien bei der Hand sind.

2) Der Umfang der nötigen Gefäße, ihre Anzahl und die Quantität des erforderlichen sterilisierten Wassers erschweren un-
gemein den Transport auf Entfernungen, wie z. B. in den Fällen, in welchen man auf der Stelle — was immer ratsam ist — die ersten analytischen Operationen vornehmen muß.

3) Dank den starken zu den Verdünnungen angewendeten Wasserquantitäten, ist es nicht annehmbar, daß es nach der Sterilisierung im gehörigen Quantum in den Gefäßen fortgeschafft werde, um nicht zufälligen, fast gewissen Verunreinigungen entgegenzu-
gehen. Aus diesem Grunde wird nach Miquel das Wasser zu-
erst gemessen und dann in denselben Gefäßen sterilisiert. Dabei ver-
dunstet aber durch die Sterilisierungswärme eine gewisse Quantität
Wasser, und die unter solchen Umständen vorgenommenen Ver-
dünnungen haben wirklich den genauen erforderlichen Titer nicht.
Dies ist also eine nicht unbeträchtliche Ursache von Irrtümern.

4) Im Falle man ein Wasser analysieren muß — wie dies oft vor-
kommt — von dem man nicht einmal annähernd den bakteriischen
Gehalt kennt, rät Miquel an, Präliminarproben vorzunehmen, oder
eine Reihe von Verdünnungen zu sehr verschiedenen Titern, z. B.
von 1:10 bis zu 1:100000, zu machen.

Im ersten Falle hat man eine Verspätung von wenigstens
24 Stunden für die definitive Untersuchung mit den entsprechenden
Widerwärtigkeiten, welche wir schon erwähnt haben; im zweiten
Falle wird die Operation durch die ungeheure Menge von Material,
welches für jede Analyse bereit gehalten werden muß, schwierig
und zeitraubend gemacht.

* * *

Um die soeben beschriebene Methode von Miquel praktischer
und genauer zu machen, habe ich versucht, einige Aenderungen ein-
zuführen, welche sie gleichzeitig so vereinfachen sollten, daß sie auch
den bescheidensten Laboratorien zugänglich gemacht werden kann.

Nach zahlreichen Versuchen kam ich zu einer Methode, zu
welcher Folgendes notwendig ist:

Gewöhnliche Kulturröhren.

Eine graduierte Pipette zu 10 ccm	} sterilisiert.
3 Pipetten zu 2 ccm	
Verschiedene Pipetten zu 1 ccm	
Sterilisiertes Wasser.	

Beim gewöhnlichen Gebrauche ist es meiner persönlichen Erfahrung gemäß genügend, folgende Verdünnungen zu verwenden:

a 1:10,	f 1:10 000,
b 1:100,	g 1:20 000,
c 1:500,	h 1:50 000,
d 1:1000,	i 1:100 000.
e 1:5000,	

Um diese Verdünnungen darzustellen, fängt man an, mittels der Pipette zu 10 ccm 9 ccm sterilisierten Wassers in 5 Röhren (a, b, d, f, i) zu verteilen; andere 8 ccm werden in 3 Röhren (c, e, h) verteilt und 19 ccm werden in das Rohr (g) gegeben.

Ist diese Operation vollzogen, so gießt man in einer Verdünnung 1:10 mittels einer Pipette zu 1 ccm 1 ccm des zu untersuchenden Wassers in die Röhre a; nachdem das Wasser sorgfältig geschüttelt worden ist, um die Flüssigkeit gleichmäßig zu verteilen, gießt man mit einer anderen Pipette 1 ccm dieser ersten Verdünnung in die Röhre b und so fort für die Röhren d, f, i. Für die Verdünnung 1:500 gießt man mit der besonderen Pipette in die Röhre c, 2 ccm der Verdünnung 1:100; für diejenige von 1:5000 gießt man in ähnlicher Weise 2 ccm der Verdünnung 1:1000 in die Röhre e, und für die von 1:50 000 gießt man in die Röhre h 2 ccm der Verdünnung 1:10 000; endlich erhält man die Verdünnung 1:20 000, indem man in die Röhre (g) 1 ccm derjenigen von 1:10 000 gießt. In folgender Tabelle, in welcher mit X das zu analysierende Wasser und mit S das sterilisierte Wasser bezeichnet ist, wird das jetzt beschriebene Verfahren kurz dargestellt:

N.	Titer der Verdünnung	Aequivalent in Dezimalen	Erforderte Quantität in ccm
		ccm	
A	1:10	0,1	9 S + 1 X
B	1:100	0,01	9 S + 1 A
C	1:500	0,002	8 S + 2 B
D	1:1000	0,001	9 S + 1 B
E	1:5000	0,0002	8 S + 2 D
F	1:10 000	0,0001	9 S + 1 D
G	1:20 000	0,00005	19 S + 1 D
H	1:50 000	0,00002	8 S + 2 F
I	1:100 000	0,00001	9 S + 1 F

Aus jeder Verdünnung bereitet man auf dem gewöhnlichen Wege eine Reihe von 3 Gelatineplatten, indem man auf jede Platte 1 ccm aussät.

Endlich werden die Platten in den Ofen bei 20° gesetzt und täglich beobachtet; und jene, bei welchen die Zahl der Kolonien, besonders wenn sie verflüssigend sind, übermäßig ist, werden beseitigt, während die anderen, bei welchen die Zählung besser von statten geht, zurückbehalten werden können.

Die Anwendung der Kulturröhren, um Verdünnungen vorzunehmen, ist besonders für jene Fälle geeignet, bei welchen man sie mit auf die Reise nehmen muß, um die Analyse an Ort und Stelle vorzunehmen, denn das sterilisierte Wasser, welches in den-

selben verteilt wird, erleidet praktischerweise weder Erschütterungen noch Stöße, woraus folgt, daß die Gefahr, die Quantität zu verändern, kleiner wird. Für die Arbeiten im Laboratorium dienen besser kleine Flaschen oder Kolben nach Erlenmeyer, in welchen die Mischung des Wassers schneller von statten geht, denn das dargebotene Erschütterungsfeld wird dadurch vergrößert.

Es ist offenbar, daß diese Methode das analytische Verfahren leichter und schneller macht, wenig Material erfordert, und die Ursache des von der für die Wasserverdunstung nötigen Wärme herrührenden Fehlers aufhebt, denn das Wasser wird eben nach der Sterilisation verteilt.

Uebrigens wird, dank der Leichtigkeit, mit welcher man eine große Anzahl von Verdünnungen vornehmen kann, die Präliminaruntersuchung überflüssig, denn für jeden besonderen Fall wird uns die methodische Prüfung der Platten die zur Zählung nützlichen Winke geben.

*

*

Wenn man in jedem Falle die Methode zahlreicher Verdünnungen verschiedenen Titters anwendet, so wird durch den Vergleich der so erhaltenen verschiedenen Platten eine Tatsache von größter Wichtigkeit für die diagnostische Schätzung des Wassers nachgewiesen, welche hier kurz, wie folgt, zusammengefaßt werden kann:

„In der bakteriologischen quantitativen Analyse eines Wassers ist die Zahl der erschlossenen Kolonien auf jenen Platten vollständiger, welche einer stärkeren Verdünnung unterworfen wurden.“

Mit anderen Worten: Wenn wir die Kolonien zählen, welche auf einer mit einer Verdünnung von 1:100 besäten Platte und jene, welche auf einer anderen mit einer Lösung von 1:5000 besäten Platte erschienen sind, und wir referieren die erhaltenen Zahlen auf das Kubikcentimeter, so finden wir, daß in der Regel die Zahl der Mikroben größer ist, als diejenige der ersten Platte.

Natürlich wechselt die größere Verdünnung nach dem Reichtume des Wassers an Mikroben. Miquel glaubt, daß die besten Platten für die Zählung diejenigen seien, auf welchen sich 1 bis 5 Keime entwickelt haben.

Im Verlaufe einiger meiner Untersuchungen habe ich Gelegenheit gehabt, nachzuweisen, wie der oben dargelegte Satz einer fast beständigen Regel folgt; folgende aus meinen Protokollen entlehnte Zahlen werden als Beispiel dienen:

Titer der Verdünnung	Verflüssigende Kleinwesen		Nichtverflüssigende Kleinwesen	
	gefunden	per ccm	gefunden	per ccm
I. Beobachtung.				
1:10	25	250	986	9 860
1:100	11	1 100	113	11 300
1:1000	3	3 000	28	28 000
1:100 000	5	500 000	31	3 100 000
II. Beobachtung.				
1:1000	2	2 000	24	24 000
1:10 000	1	10 000	8	80 000
1:100 000	1	100 000	24	240 000

Titer der Verdünnung	Verflüssigende Kleinwesen		Nichtverflüssigende Kleinwesen	
	gefunden	per ccm	gefunden	per ccm
III. Beobachtung.				
1:10	25	250	986	9 860
1:100	11	1 100	113	11 300
1:1 000	3	3 000	28	28 000
1:100 000	5	500 000	31	3 100 000
IV. Beobachtung.				
1:10	30	300	408	4 080
1:100	—	—	31	3 100
1:1000	2	2 000	27	27 000
1:10 000	5	50 000	75	750 000
V. Beobachtung.				
1:10	7	70	57	570
1:100 000	5	500 000	416	41 600 000
VI. Beobachtung.				
1:10	13	130	465	4 650
1:100	11	1 100	77	7 700
1:1000	1	1 000	8	8 000
1:10 000	1	10 000	2	20 000
1:100 000	2	200 000	38	3 800 000
VII. Beobachtung.				
1:10	16	160	796	7 960
1:100	16	1 600	218	21 800
1:1000	1	1 000	9	9 000
1:10 000	1	10 000	6	60 000
1:100 000	1	100 000	6	600 000
VIII. Beobachtung.				
1:100	23	3 300	161	16 100
1:1000	4	4 000	15	15 000
1:10 000	1	10 000	3	30 000
1:100 000	1	100 000	2	200 000
IX. Beobachtung.				
1:100	2	200	111	11 100
1:1000	1	1 000	11	11 000
1:20 000	1	20 000	5	50 000
X. Beobachtung.				
1:100	20	2 000	unzählige	
1:1000	1	1 000	61	61 000
1:10 000	1	10 000	14	140 000
1:20 000	1	20 000	9	180 000
XI. Beobachtung.				
1:100	16	1 600	395	39 500
1:10 000	4	40 000	387	3 870 000
XII. Beobachtung.				
1:100	25	2 500	470	47 000
1:1000	1	1 000	343	343 000
1:10 000	1	10 000	24	240 000
1:20 000	1	20 000	131	2 620 000

19*

Die untersuchten Wässer, welche in den Beobachtungen (I—VIII) behandelt werden, sind aus dem Kanale des „kleinen Rheins“ entnommen, welcher die Stadt Bologna durchfließt und so starken Infizierungen ausgesetzt ist, deren Intermittenz deutlich aus den oben angegebenen Zahlen hervorgeht.

Die Beobachtungen (IX—XII) gehören hingegen der Aposa an, einem Wildbache, welcher ebenfalls die Stadt Bologna durchfließt und als Kollektor eines guten Teiles der städtischen Kloaken dient.

Die oben vorgebrachten Beispiele scheinen mir hinlänglich beweisend zu sein, ohne noch andere hinzufügen zu müssen. Wir haben offenbar Wässer von sehr hohem Bakteriengehalte vor uns, und die Notwendigkeit, sehr starke Verdünnungen anzuwenden, um den Wert dieses Gehaltes gehörig zu schätzen, erscheint unvermeidlich.

Wenn wir uns auf die Verdünnungen 1:10 oder 1:100 beschränkt hätten — wie sie gewöhnlich in der Analyse der Wässer angewendet werden — würden wir uns solchen Ergebnissen gegenüber befunden haben, welche uns hätten verleiten können, die untersuchten Wässer als kaum weniger als trinkbar zu betrachten.

Die von Miquel gegebenen und im allgemeinen angenommenen Grenzen der Trinkbarkeit sind eben:

Uebersaus reines Wasser von 0		bis 10	Bakterien auf 1 ccm	
Sehr	„	10	„	100
„	„	100	„	1000
Mittelmäßiges	„	1000	„	10 000
Unreines	„	10 000	„	100 000
Sehr unreines	„	100 000 und mehr	„	„

Der Kongreß der Schweizer Chemiker zu Freiburg hat als höchste Grenze 150 Keime auf 1 ccm festgesetzt; Emmerich und Trillich erhöhen diese bis auf 200, Fränkel auf 250, Plagge und Proskauer auf 300, Gärtner auf 500 etc.

Bei der Beobachtung No. V — wovon ich die beiden Extremverdünnungen 1:10 und 1:100 000 mitgeteilt habe, damit der Vergleich greller ins Auge fallen sollte — ist mit der ersten Verdünnung ein Total von 640 Keimen auf 1 ccm erhalten worden, welches Ergebnis — nach der Skala von Miquel — ein Wasser als rein dargestellt hätte, das bei einer Verdünnung von 1:100 000 uns die ungeheuerere Zahl von 42 100 000 Kleinwesen auf 1 ccm gegeben hat!

Wenn wir uns bei der Verdünnung 1:10 aufgehalten hätten, würden wir die Probe der IV. Beobachtung höchstens als mittelmäßig trinkbar angesehen haben, welche uns 4380 Bakterien dargeboten hat, während sie bei 1:1000 uns deren 80 000 darbot, und jene der VI. Beobachtung, welche bei 1:1000 10 000 Mikroben aufwies, während bei 1:100 000 sich diese Zahl auf 380 000 belief, u. s. f.

Auch bei der Prüfung der Wässer, von denen man annimmt, daß sie keinen so außerordentlich hohen bakteriischen Gehalt haben sollten, ist es also unumgänglich notwendig, zu zahlreichen Verdünnungen sehr verschiedenen Titers zu schreiten, denn die bei der gewöhnlichen Praktik angewandten Verdünnungen oder Teilungen genügen nicht, um einen richtigen Begriff von der wirklich

in ihnen enthaltenen Keimquantität zu geben. Wenn man also folglich den „Limitzahlen“ irgend einen Wert beilegen will — welche übrigens unter den Rücksichten der Trinkbarkeit eines Wassers nur unter Mitwirkung aller anderen von der Prüfung an Ort und Stelle durch die chemische Analyse und durch die bakteriologische qualitative Untersuchung gegebenen Koeffizienten angenommen werden dürfen — müssen sie auf eine weit höhere Zahl gebracht werden, denn wenn man den Begriff der starken Verdünnungen annimmt, werden diese Limite fast immer auch von den Wässern unter den besten Trinkbarkeitsumständen überschritten werden.

*

Welches sind die Ursachen des bis jetzt Vorgetragenen? Die einfache Vernunft lehrt, wie es nicht möglich ist, daß sich dort Kleinwesen entwickeln, wo der Raum dazu fehlt, und die Beobachtung der Platten beweist in der Tat, daß auf diejenigen, auf welchen die leichten Verdünnungen eine größere Anzahl von Keimen hervorbringen, sich nicht alle Arten entwickeln, welche man auf den verschiedenen anderen Platten erscheinen sieht, wo die größere Teilung sie derart verteilte, daß die Entwicklung aller oder fast aller möglich war.

Wir befinden uns also einem weiteren Beweise gegenüber, daß solche Arten von Mikroorganismen existieren, deren individuelle Eigenschaften ihnen gestatten, andere weniger widerstandsfähige Arten zu überwältigen und sich an ihre Stelle zu setzen; es ist also der Kampf ums Dasein, welcher zwischen den unendlich Kleinen entbrennt und der uns wieder in den Bereich der antagonistischen Phänomene führt.

Welche diese zwischen den gemeinen Wasserkeimen bestehenden Antagonismusverhältnisse seien, hoffe ich später bei Veröffentlichung einiger systematischer Untersuchungen über diesen Gegenstand, welche jetzt in Bearbeitung sind, beweisen zu können.

(Ins Deutsche übertragen von O. Negri.)

Bibliographie.

- Sanarelli, La diagnosi igienica delle acque potabili. (La Clinica moderna. 1895.)
- Miquel, Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux. Paris 1891.
- Miquel et Cambier, Traité de bactériologie. Paris 1902.
- Duclaux, Traité de microbiologie. T. I. Paris 1898.
- Miquel, Annales de Montsouris.
- Abba, Manuale tecnico di microscopia e bacteriologia. Torino 1902.
- Roux, G., Précis d'analyse bactériologique des eaux. Paris 1892.
- Crookshank, Test book of bacteriology. London 1896.
- Lewis and Balfour, Public Health and Preventive Medicine. Edinburgh 1902.
- Kenwood, Public Health Laboratory Work. London 1893.
- Stevenson and Murphy, Treatise on Hygiene and Public Health. London 1892.
- Heim, Lehrbuch der bakteriologischen Untersuchung und Diagnostik. Stuttgart 1894.
- Besson, Technique microbiologique e sérotherapique. Paris 1902.
- Nicolle et Remlinger, Technique bactériologique. Paris 1902.
- Berlioz, Précis de bactériologie medicale. Paris 1903.
- Abel, Manuale di tecnica bacteriologica. Trad. it. Palermo 1903.
- Ruata e Tonzig, Nozioni tecniche di bacteriologia, microscopia e chimica applicata all'igiene. Padova 1901.
- Migula, Compend. d. bakteriolog. Wasseruntersuchung. 1901.

Sammlungen.

Jaap, Otto, *Fungi selecti exsiccati*. Serie I. (25 Nummern.)
Hamburg (Selbstverlag). 10 M.

Ein prachtvolles Exsikkatenwerk, das nur seltene und neue Pilze enthält und enthalten wird.

Die Pilze liegen lose zwischen Papier in Kapseln mit gedruckter Etiquette; doch auf Wunsch können die Kapseln auch auf Kartons geklebt geliefert werden.

Die Auflage erfolgt nur in 30 Exemplaren. Heteröcische Arten erscheinen unter einer Nummer.

Die erste Serie enthält: 1. *Synchytrium Stellariae*, 2. *Physoderma maculare* auf *Echinodorus ranunculoides*, 3. *Ph. Schroeteri*, 4. *Sclerospora graminicola*, 5. *Plasmospora Epilobii*, 6. *Peronospora Chlorae* auf *Erythraea litoralis*, 7. *Magnusiella Potentillae*, 8. *Exoascus minor* (einzig bekannter Standort), 9. *Rhytisma symmetricum*, 10. *Nectria episphaeria* auf *Diatrype bullata*, 11. *Leptosphaeria sphyradiana* auf *Sphyridium placophyllum*, 12. *Ustilago plumbea*, 13. *Cintractia Montagnei*, 14. *Tilletia olida*, 15. *Schroeteria Decaisneana*, 16. *Melampsora pinitorqua*, 17. *Mel. Magnusiana*, 18. *Mel. Rostrupii*, 19. *Mel. Allii-populina*, 20. *Mel. Allii-fragilis*, 21. *Puccinia variabilis* (aus Deutschland), 22. *Puc. Pulsatillae*, 23. *Corticium coeruleum*, 24. *Marasmius argyropus*, 25. *Phleospora Jaapiana*.

Franz Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Referate.

Kita, Toyokichi, Ueber die Mikroorganismen und Zersetzung des gekochten Reises (japan. B-ē han).
[Inaug.-Diss.] 8°. 57 pp. Leipzig 1903.

Der gekochte Reis enthielt auch nach 5 Minuten langer Einwirkung von 100° C noch gewisse Mikroorganismen, wie *Tsuboi* zuerst gefunden hat. Sie sind einheitlicher Art und bestehen aus *Bacillus subtilis*.

An 100 Körnern des gekochten Reises finden sich im Durchschnitt 11 Sporen dieses *Bacillus*.

Die oben liegende Schicht des gekochten, noch im Verfall befindlichen Reises enthielt weniger Sporen als die unten liegende.

100 Körner des nur in Wasser gewaschenen ungekochten Reises enthalten durchschnittlich 66 Sporen von *Bacillus subtilis*, also 6mal mehr als die gleiche Menge gekochten Reises.

Was die stündliche Vermehrung von *Bacillus subtilis* im gekochten Reis und die Fäulnis des letzteren betrifft, so sind dieselben wechselnd, so daß man keine zusammenfassende Angabe zu machen imstande ist.

Wenn man den eine bestimmte Zeit lang der Kälte ausgesetzten

Reis in die Wärme bringt, geht er schneller in Fäulnis über, als jener, der von Anfang an bei bestimmter Wärme aufbewahrt wird.

Der Behan, welcher der Luft ausgesetzt und dadurch der Vertrocknung unterworfen wird, geht spät in Fäulnis über und ist der Entwicklung von *Bacillus subtilis* wenig unterworfen, obwohl Luftkeime während des Trocknens zufällig den gekochten Reis infizieren können. Bei dem dem Vertrocknen nicht ausgesetzten, feuchten Behan ist in allen drei Punkten das gerade Gegenteil der Fall.

Selbst bei dem der Vertrocknung nur 30 Minuten lang ausgesetzten Behan findet man nicht nur den ihm eigentümlichen *Bacillus subtilis*, sondern auch die zufällig infizierten Schimmelpilze und andere Saprophyten weniger als bei dem der Vertrocknung nicht ausgesetzten sich entwickeln.

Selbst ein nur geringer Wasserverlust des gekochten Reises wirkt auf die Entwicklung des *Bacillus subtilis* und der Fäulnis ein.

Die durch Kälte und Vertrocknung kombinierten Einwirkungen bestehen darin, daß die Fäulnis oder die Entwicklung des *Bacillus subtilis* fast gar nicht oder erst sehr spät eintritt.

Auch die Vertrocknung durch Erniedrigung des Luftdruckes kann die Fäulnis des gekochten Reises verhindern.

Der Eintritt der Fäulnis wird dadurch verzögert, daß man vor jedem Gebrauch die Holzgefäße, in denen der gekochte Reis aufbewahrt wird, durch künstliche oder natürliche Wärme völlig austrocknen läßt.

E. Roth (Halle a. S.).

Dierkx, Fr., Essai de revision du genre *Penicillium* Link. Note préliminaire. (Annales de la Société scientifique de Bruxelles. T. XXV. 1900.)

Verf. gibt zuerst eine Uebersicht derjenigen Prinzipien, nach welchen er seine Untersuchungen unternommen hat. So benutzt er das Aussehen (Farbe) der Vegetationen auf verschiedenen Nährsubstraten, nämlich 1) Würzegelatine, 2) Raulins Flüssigkeit, 3) Hayducks Flüssigkeit und 4) eine schwach saure Bouillongelatine, ferner die Dimensionen der Konidien, Sterigmen und Konidienträger. Inwieweit die beschriebenen Arten Askosporen bilden oder nicht, wird nicht erwähnt, und man sieht auch nicht, ob Verf. Züchtungsversuche in dieser Beziehung unternommen hat. Dies ist aber von so großer Wichtigkeit zur Charakterisierung der Arten, daß Rücksicht darauf bei einer monographischen Bearbeitung genommen werden muß. Daß die physiologischen Verhältnisse der Arten nicht besprochen sind, ist dagegen in einer Abhandlung, die, wie die vorliegende, von morphologischer und systematischer Natur ist, nur zu erwarten.

Die Gattung *Penicillium* Link teilt er in 2 Untergattungen, nämlich *Aspergilloides* und *Eupenicillia*. Es werden, übrigens sehr kurz, 25 Arten beschrieben, von welchen nur 3 der früheren bekannten. Diese 25 Arten sind die folgenden:

I. Aspergilloides.		Penicillium minio-luteum.	
Penicillium	rubro-punctatum.	"	congolense.
"	candido-fulvum.	"	elongatum.
"	aurantio-brunne-	"	glaucum Link?
	um.	"	atro-viride.
"	citreo-roseum.	"	verrucosum.
"	carmino-violace-	"	griseo-brunneum.
	um.	"	brevicompactum.
"	roseo-purpureum.	"	griseo-fulvum.
"	citreo-nigrum.	"	Biourgei.
"	corylophilum.	"	brunneo-rubrum.
II. Eupenicillia.		"	aurantio-candi-
"	Duclauxi Delacr.		dum.
"	olivaceum Wehm.?	"	aurantio-griseum.
	(=P.aeruginosum	"	hirsutum.
	Dierkx).	"	griseo-roseum.

Eine monographische Bearbeitung der Penicillium-Arten ist gewiß in hohem Grade wünschenswert, aber nach anderen Prinzipien als denjenigen, welche Verf. in der obengenannten Abhandlung angewendet hat. Klöcker (Kopenhagen).

Chamot, E. M. et Thiry, G., Notes sur le pigment du *Bacillus polychromogenes*. (Comptes rendus du Congrès des sociétés savantes de 1902. Paris 1903. p. 297 — 299.)

Die hellblauen, mit dem Pigment dieses Organismus erhaltenen Lösungen ergeben im Spektrum einen deutlichen Absorptionsstreifen, der in der Nähe der Linie D gelegen ist.

Die Hinzufügung einer Säure vermehrt die Intensität der Absorption und verschiebt sie gegen Violett hin, während die Hinzufügung eines fixen Alkalis ein fast vollständiges Verschwinden des in der Nähe von D gelegenen Absorptionsstreifens bewirkt und der Lösung eine grüne Färbung verleiht.

Die grünen Lösungen verhalten sich wie das blaue mit Alkali versetzte und die violetten Lösungen wie dasselbe mit Säure versetzte Pigment.

Die verschiedenen Färbungen des Pigments dieses *Bacillus* scheinen also von derselben Farbsubstanz herzurühren, und der Mikroorganismus bringt keine verschiedenen Pigmente in verschiedenen Medien hervor. Langeron (Paris).

Mangin, L. und Viala, P., Sur un nouveau groupe de Champignons, les Bornétinées, et sur le Bornetina corium de la Phthiriose de la Vigne. (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1699.)

Die Verff. kommen ausführlich auf den schon früher (ibid. 1903) von ihnen beschriebenen Pilz, *Bornetina corium*, zurück, der zusammen mit *Dactylopius Vitis* besonders in Palästina eine eigenartige Krankheit des Rebstockes veranlaßt.

Durch künstliche Kultur der *Bornetina corium* auf verschiedenen Nährböden machten sich die Verff. mit den morphologischen und histologischen Eigentümlichkeiten des Pilzes bekannt. Die Fäden des Mycels sind vielzellig, verzweigt, mit Schnallen versehen. Die Seitenzweige werden dick (4—8 μ), bekommen eine sehr derbe Membran und verfilzen sich zu einer festen Masse

(„cuir mycelien“), welche die Wurzeln des erkrankten Rebstockes umscheidet. Die Mycelfäden der becherartigen Masse sind an ihrem Ende keulig geschwollen, bis $40\ \mu$ dick und verschleimen schließlich. Die Sporen entstehen einzeln in kleinen Sporangien, sie messen $8-12\ \mu$ im Durchmesser.

Auf Grund der geschilderten Charaktere stellen die Verff. eine neue Gruppe, die Bornetineen, für ihren Pilz auf, deren systematische Stellung vorläufig zwischen Ustilagineen und Basidiomyceten zu suchen sei.

Küster (Halle a. S.).

Stäger, Rob., Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden *Claviceps*-Arten. (Bot. Ztg. 1903. Heft 6/7. p. 111—158.)

In der am botanischen Institut der Universität Bern in den Jahren 1898 bis 1901 ausgeführten Arbeit stellt sich der Verf. die Frage, ob die 6 bisher bekannten morphologisch-anatomisch unterschiedenen *Claviceps*-Arten, nämlich *Claviceps purpurea* Tul., *Cl. microcephala* Tul., *Cl. nigricans* Tul., *Cl. setulosa* Quélet, *Cl. Wilsoni* Cooke und *Cl. pusilla* Cesati wirklich spezifisch different seien, und ob nicht innerhalb derselben sich eine Spezialisierung in Rassen geltend mache. In dieser Richtung wurden bisher noch keine Infektionsversuche ausgeführt, weshalb die vom Verf. mit *Claviceps purpurea* Tul., *Cl. microcephala* Tul., und *Cl. Wilsoni* Cooke (?) mit großer Umsicht und Geduld angestellten, äußerst zahlreichen Impfversuche eine sichtbare Lücke ausfüllen und, wie die Resultate zeigen, in mancher Richtung von großem Interesse sind.

Für die Impfungen bildeten jeweilen die in den Keulensphäridien entwickelten Askosporen den Ausgangspunkt, wogegen die teils an den Versuchspflanzen entstandenen, teils die im Freien gesammelten Konidien, der sog. Honigtau, zu den folgenden Infektionsversuchen verwendet wurden. Für den genaueren Gang der Versuche sowie für die zahlreichen, bei denselben gewonnenen Einzelresultate und interessanten Nebenbeobachtungen müssen wir auf das Original verweisen, wogegen hier die wichtigsten Versuchsergebnisse mitgeteilt seien:

1) *Claviceps purpurea* Tul. Aus 27 verschiedenen Infektionsversuchen ergibt sich, daß *Claviceps purpurea* Tul., der Mutterkornpilz vom Roggen, leicht übertragbar ist auf folgende Gräser: *Secale cereale*, *Anthoxanthum odoratum*, *Hierochloa borealis*, *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Hordeum murinum*, *Festuca pratensis*, Gerste, *Phalaris arundinacea*, *Briza media*, *Calamagrostis arundinacea*, *Poa pratensis*, *Poa caesia*, *Poa sudetica*, *Poa hybrida*, *Poa compressa* und *Bromus sterilis*.

Nur geringen oder teilweisen Erfolg ergab die Impfung auf *Poa alpina* und *Poa concinna*, währenddem *Poa fertilis* und *Poa annua* völlig immun blieben, wie auch *Nardus stricta* und *Molinia coerulea* (Nährpflanzen von *Claviceps microcephala* Tul.)

Nicht ganz sicher sind die Resultate auf *Triticum spelta*, das keinen Erfolg zeigte und auf *Alopecurus pratensis*, bei dem ein Versuch erst am 45. Tage eintrat.

Sichere, negative Resultate sind dagegen noch bei *Lolium perenne*, *Lolium italicum*, *Bromus erectus* (den Nährpflanzen einer spezialisierten Art) und bei *Glyceria fluitans* und *Glyceria distans* (welch erstere die *Claviceps Wilsoni* Cooke beherbergt) zu verzeichnen.

Währenddem die *Lolium*-Arten, sowie *Bromus erectus* von der *Claviceps* des Roggens nie befallen wurden, ergab sich in 5 zu dem Zwecke angestellten Impfversuchen, daß die von *Lolium perenne* stammende *Claviceps* leicht übertragbar war auf *Lolium perenne*, *L. italicum*, *L. temulentum*, *L. rigidum* und *Bromus erectus*, wogegen *Poa pratensis*, *Panicum sanguinale*, *Anthoxanthum odoratum*, Roggen, *Alopecurus pratensis*, *Bromus macrostachys*, *Aegilops bicornis*, *Arrhenatherum elatius*, *Brachypodium silvaticum* und *Bromus giganteus* stets immun blieben. Da morphologische Unterschiede zwischen der auf Roggen lebenden *Claviceps* und derjenigen des Lolchs nicht vorzuliegen scheinen, so wird die *Claviceps purpurea* auf *Lolium*-Arten und auf *Bromus erectus* als besondere biologische Art angesprochen.

Ebenso wird auf Grund eines Infektionsversuches, in welchem Konidien von *Poa annua* nur wieder eine Infektion auf dieser, nicht aber auf *Lolium*-Arten erzeugten, die *Claviceps* von *Poa annua* als biologische Art von *Claviceps purpurea* aufgefaßt. Dieses Ergebnis steht in voller Uebereinstimmung mit dem negativen Verhalten von *Poa annua* besät mit Sporen der *Claviceps purpurea* des Roggens, und wie spätere Versuche zeigen, auch derjenigen der *Glyceria fluitans*.

In zwei weiteren Versuchen wird gezeigt, daß auch die *Claviceps* von *Brachypodium silvaticum* eine biologische Art der Roggen-*Claviceps* sein dürfte, da sie sich auf andere Gräser nicht übertragen ließ. Zu dieser biologischen Art dürfte laut eines weiteren, leider nur vereinzelt und nicht ganz einwandfreien Versuches auch die *Claviceps* auf *Milium effusum* gehören.

2) *Claviceps microcephala* Tul., von *Claviceps purpurea* Tul. auf Grund morphologischer Eigentümlichkeiten gut unterscheidbar, ist, wie aus 11 Infektionsversuchen hervorgeht, auf folgende Nährpflanzen übertragbar: *Phragmites communis*, *Nardus stricta*, *Molinia coerulea* und *Aira caespitosa*. Dagegen gehört die von Tulasne für diese Art angegebene Nährpflanze, *Calamagrostis arundinacea*, in den Formenkreis der *Claviceps purpurea*-Wirte. Die für den Mutterkornpilz des Roggens typischen Wirtspflanzen können mit *Claviceps microcephala*-Sporen nicht infiziert werden.

3) Als *Claviceps Wilsoni* Cooke wird von Wilson ein in England auf *Glyceria fluitans* lebendes Mutterkorn beschrieben. Der Verf. hält es, wenn auch nicht für erwiesen, so

doch für wahrscheinlich, daß die zu seinen Versuchen benutzte, in der Schweiz auf *Glyceria fluitans* lebende *Claviceps* mit der genannten Art identisch sei. Jedenfalls geht aus mehreren Infektionsversuchen deutlich hervor, daß die *Claviceps* auf *Glyceria fluitans* nicht nur die für das gewöhnliche Mutterkorn des Roggens charakteristischen Gramineen (siehe daselbst) meidet, sondern auch die Nährpflanzen von *Claviceps microcephala* Tul. und diejenigen, worauf die *Claviceps* des Lolches gedeiht. Außerdem bieten der *Claviceps* der *Glyceria* keine günstigen Bedingungen: *Poa annua* und *Brachypodium silvaticum*, beides Nährpflanzen spezialisierter Mutterkornarten. Umgekehrt konnte *Claviceps purpurea* von *Anthoxanthum odoratum* und von *Arrhenatherum elatius* nicht auf *Glyceria fluitans* übertragen werden.

Im Anschluß an die zahlreichen Versuche mit den genannten 3 Arten werden interessante im Freien gemachte Beobachtungen mitgeteilt, und als Anhang zu der lesenswerten Arbeit wird ein Verzeichnis der die mit Honigtau befallenen Gräser besuchenden und die Uebertragung der Konidien vermittelnden Insekten nach der Bestimmung des Herrn Dr. Steck gegeben.

Jacky (Bern).

Bélèze, Marguerite, Quelques observations sur les „criblures en grains de plomb“ qui perforent les feuilles de certains végétaux cultivés et sauvages des environs de Montfort-l'Amaury et de la forêt de Rambouillet-Seine et Oise. (Comptes rendus du Congrès des sociétés savantes de 1902. Paris 1903. p. 139—143.)

Diese Durchlochungen oder Durchbohrungen scheinen von einem Ausstoßungsprozeß herzurühren, bei dem der Parasit durch Absterben der erkrankten Gewebe entfernt wird. Die auf experimentellem Wege durch ein mechanisches oder chemisches Agens abgetöteten Teile wurden gleichfalls ausgestoßen (Duggard).

Folgendes sind die angegriffenen Pflanzen und ihre Parasiten:

Urocystis Violae Rab. auf *Viola odorata*;

Phyllosticta Saponariae Sacc. auf *Saponaria officinalis*;

Ph. Tiliae Sacc. auf *Tilia platyphylla*;

Puccinia Malvacearum Mont.;

Ramularia Fragariae Sacc. auf *Fragaria virginiana*;

R. patens Sacc. auf *Rumex obtusifolius*;

Coryneum Beyerinckii Ord. auf *Amygdalus persica* et *Armeniaca vulgaris*;

Gleosporium hedericolum Delacroix (n. sp.) auf *Hedera helix*;

Septoria scabiosicola Desm. auf *Knautia arvensis*.

Langeron (Paris).

Beauverie, J., La maladie des platanes. (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1586.)

Die von *Gloeosporium nervisequum* hervorgerufene

Platanenkrankheit wurde in den letzten Jahren immer gefährlicher. Die Infektion mit dem Pilz veranlaßte früher nur vorzeitigen Laubfall im Sommer, ohne eine erneute Blattbildung auszuschließen; jetzt befällt der Pilz die ganze Pflanze und richtet sie zuweilen völlig zu Grunde.

Der Pilz perenniert in der Platane und verbreitet sich — günstige klimatische Bedingungen vorausgesetzt — von einem Jahr zum anderen immer mehr in ihr. Von den Blättern kommt er in die jüngeren und älteren Zweige, schließlich in den Stamm und durchwuchert Kambium und Rinde. Auch kann der Stamm direkt infiziert werden; Lenticellen und gelegentliche kleine Wunden gestatten dem Pilz das Eindringen. — Kaltes, feuchtes Wetter im Frühjahr fördert die Verbreitung des Parasiten.

Küster (Halle a. S.).

Hartley, Ch. P., Injurious effects of premature pollination with general notes on artificial pollination and the setting of fruit without pollination. (U. S. Department of Agricult. B. of Pl. J. Bull. 22. Washington 1902.)

Von Interesse sind die Resultate, die Verf. an *Nicotiana* und *Datura tatula* durch vorzeitige Bestäubung der Narben erzielte. Die Pollenkörner keimten auf den unreifen Narben in normaler Weise und ließen den Pollenschlauch in die Fruchtknotenöhle hineinwachsen. Befruchtung und Samenbildung läßt sich aber nicht erzielen, vielmehr gehen die Blüten, deren Narben vorzeitig bestäubt wurden, zu Grunde. Je reichlicher die Belegung der Narben mit Pollen, um so intensiver die Schädigung.

Küster (Halle a. S.).

Daniel, L., Peut-on modifier les habitudes des plantes par la greffe? (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1157.)

Als die wichtigsten Resultate der geschilderten Pfropfversuche sind folgende zu nennen:

1) Werden von perennierenden Pflanzen diejenigen Teile, welche unter normalen Verhältnissen nur eine Vegetationsperiode hindurch am Leben bleiben, auf ausdauernden Pflanzenteilen anderer Arten gepfropft (*Tanacetum Balsamita* oder *Leucanthemum Lagustrum* auf *Anthemis frutescens*), so kann man die Lebensdauer der aufgesetzten Pflanzenteile verlängern.

2) Das ausdauernde *Solanum pubigerum* wurde auf Riesentabak, der in unserem Klima einjährig ist, gepfropft: die Unterlage wurde dadurch ausdauernd. Küster (Halle a. S.).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Trost, C., Erfahrungszahlen zum Gebrauche bei der Bekämpfung des Kiefernspinners (*Gastropachapini*).

(Tharander forstliches Jahrbuch. Bd. LIII. 1903. p. 92—119. 3 Fig.)

Durch besondere Organisation des Probesammelns auf Kiefernspinnerrauen, durch Verbindung von Akkord- und Tagelohn zur Erhöhung der Gründlichkeit des Sammelns, endlich durch sehr sorgfältige Buchungen gelangte Verf. zu verhältnismäßig sehr genauen Grundlagen über Kosten und Materialverbrauch bei der Spinnerbekämpfung, sowie über das Verhältnis der Ergebnisse des Probesammelns zu der Zahl wirklich vorhandener Raupen, wie sie nachträglich durch das Leimen ermittelt werden. Trotz der musterhaften Anlage der Bekämpfung muß Verf. dennoch gestehen, daß das Ergebnis seiner Ermittlungen zu der letzten Frage ebenso überraschend als betäubend ist, denn es zeigt, das in den Beständen fünf- bis zwölfmal mehr Raupen vorhanden sein können als das sorgfältigste Probesuchen erweist. Dieser Mißerfolg braucht indessen das Pflichtgefühl des Revierverwalters nicht zu belasten: „Und ließe man selbst noch die Streudecke zerpfückend durchsuchen und die obere Bodenschicht durchsieben, so würden — man denke an die 75 Proz. kleiner Raupen — auch noch nicht alle gefunden werden.“ — Die „Erfahrungszahlen“ des Verf. verdienen die nachhaltige Beachtung aller an der Bekämpfung des Kiefernspinners interessierten Kreise.

Jacobi (Tharandt).

Dörr, K., Ueber die Verwendung von Terpentin beim Fange des *Hylobius abietis* L. (Allg. Forst- u. Jagd-Zeitg. Jahrg. LXXIX. 1903. p. 176—178.)

Die Versuche hatten erstens zum Ergebnis, daß mit Terpentin behandelte Borkenplatten durchweg ein besseres Fangergebnis liefern als gewöhnliche Fangrinden, und zwar übertreffen erstere die übrigen mit der $1\frac{1}{2}$ -fachen, gelegentlich sogar 3- bis 5fachen Leistung. Ferner blieb die Wirksamkeit auch bei solchen Terpentinplatten etwas höher, die älter waren als unbehandelte. Endlich hat sich das gewöhnliche, sogenannte amerikanische Terpentinöl besser bewährt als das deutsche „Kienöl“. Die Kosten eines einmaligen Terpentinanstriches haben für 100 Platten im Durchschnitt 1,20 M. betragen, die für Gewinnen und Auslagen von 100 Borkenplatten durchschnittlich 1,80 M. Auf Grund der Erfahrungen ergibt das Anstreichen gegenüber dem Plattenwechsel eine Ersparnis von 0,60 M. für je 100 Platten.

Jacobi (Tharandt).

Corrigendum.

In No. 6/7 auf Seite 195 im Referat von Camara Pestana, João, heißt der Originaltitel: *Destrução da „Altica ampelophaga“ por meio do „Sporotrichum globuliferum“*, außerdem muß es auf Zeile 12 von oben statt „Petri-Schale“ Petri-Schalen und Zeile 22 von oben statt „verbrennt“ verstreut heißen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Stich, C., Bakteriologie und Sterilisation im Apothekenbetrieb. Unter Mitwirkung von H. Vörner. hrsg. Berlin (Springer) 1903. VIII, 83 p. 8°. 2 Taf. u. 29 Fig. 4 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Frost, William Dodge, A simple method of making collodion sacs for bacteriological work. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 7. p. 733—735. 3 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Amand, Abel, Le „Bios“ de Wildiers ne joue pas le rôle d'un contrepoison. (La Cellule. T. XX. 1903. Fasc. 2. p. 219—257.)

Bokorny, Th., Empfindlichkeit der Enzyme, speziell der Laktase, gegen Alkohol und Säuren. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. N. 41. p. 641—642.)

Boullanger, Eugène, Industries agricoles de fermentation, cidrerie, brasserie, hydromels, distillerie. Paris 1903. 466 p. 8°. 66 Fig. 6 M.

Certes, M. A., Microbiologie. Vitalité des germes des organismes microscopiques des eaux douces et salées. (Mem. d. Pontifica Accad. Romana dei nuovi lincei. Vol. XX. 1903. p. 259—288.)

Compere, G., In search for parasites. (Journ. of the Depart. of Agricult. Vol. VIII. 1903. P. 2. p. 132—145.)

D., Die der Bierbrauerei verwandten Gärungsgewerbe. (Dtsche Brau-Industrie, Berlin. Jg. XXVIII. 1903. N. 57. p. 685—687. M. Fig.)

Delbrück, M. und **Schönfeld, M.**, System der natürlichen Hefereinzucht. Gesammelte Vorträge und Arbeiten. Berlin (Parey) 1903. 148 p. 8°. 5 M.

Delle, Ed., La fermentation. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 71. p. 283.)

—, La fermentation. (Le moniteur vinicole. (Année XLVIII. 1903. N. 78. p. 312. N. 79. p. 316.)

Despeissis, A., Insect and fungoid pests. (Journ. of the Depart. of Agricult. Vol. VIII. 1903. P. 2. p. 105—131. 20 Fig.)

Die Hopfenwanze und die durch sie verursachte Unfruchtbarkeit des Hopfens. (Der Landbote. Prenzlau 1903. N. 82. p. 937—938.)

Froggatt, Walter W., The white ant city. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 8. p. 726—730. 1 Taf. u. 7 Fig.)

van Hall, C. J. J., Wat leeren ons de waarnemingen der landbouwers over het optreden van den tarwehalmdooder (*Ophiobolus herpotrichus*)? (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. 1903. Afl. 4. p. 97—110.)

Janssen, F. A. et **Mertens, Ad.**, Étude microchimique et cytologique d'une *Torula rose*. (La Cellule. T. XX. Fasc. 2. p. 351—368. 2 Taf.)

Idé, M., Hémolyse et Antihémoglobine. (La Cellule. T. XX. 1903. Fasc. 2. p. 263—284.)

Lämmerhirt, Otto, Die wichtigsten Obstbaumschädlinge und die Mittel zu ihrer Vertilgung. 2. Aufl. Dresden (Heinrich) 1903. 62 p. 8°. 4 Taf. 60 Pf.

Bostowzew, S. J., Beiträge zur Kenntnis der Peronosporéen. (Ann. de l'inst. agronomique de Moscou. Année IX. 1903. L. 1. p. 28—49. 20 Fig.) [Russ.]

—, Beiträge zur Kenntnis der Peronosporéen. Flora. Bd. XCII. 1903. Heft 4. p. 405—430. 3 Taf. u. 1 Fig.)

Siebert, C., Ueber das Verhalten des Löfflerschen Mäusetypusbacillus zu dem v. Drigalski-Conradischen Nährboden. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 7. p. 730—733.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Luft, Wasser, Boden.

Félix, Jules, Les eaux potables en alimentaires. (Journ. d'hygiène. Année XXIX. 1903. N. 1291. p. 78—80.)

Milch, Molkerei.

- Aust**, Die gesundheitlichen Gefahren der Milchversorgung und die Notwendigkeit einer strengeren Milchkontrolle. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege. Bd. XXXV. 1903. Heft 4. p. 727—746.)
- Lance, C. C.**, Report on the Universal Hygienic Milk Exhibition. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 8. p. 759—765.)
- Marpmann, G.**, Ueber die Reinigung der Milch von Tuberkelbacillen durch Zentrifugieren. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 41. p. 642—643.)
- Ostertag**, Die sanitätspolizeiliche Regelung des Milchverkehrs. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1903. Heft 1. p. 1—5.)
- v. Ohlen**, Was hat uns die Hamburger Ausstellung für hygienische Milchversorgung bezüglich der Kindermilch gelehrt? (Dtsche Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege. Bd. XXXV. 1903. Heft 4. p. 747—761.)

Bier, Brauerei.

- Ferdinand, Jean**, Note sur le fluorure de sodium pour la conservation du beurre. (Journ. d'hygiène. Année XXIX. 1903. N. 1291. p. 76—78.)
- Rosenthal-Fischern, M.**, Einiges über den Vergärungsgrad und über die Haltbarkeit niedrig vergorener Biere bei höherer Anstelltemperatur und wärmerer Gärführung. (Dtsche Brau-Industrie Berlin. Jg. XXVIII. 1903. N. 55. p. 662—663.)
- Windisch, W.**, Das Springmaisverfahren, das Maischverfahren zur Regulierung des Endvergärungsgrades des Bieres. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 41. p. 464—466.)

Wein, Weinbereitung.

- Desmoulin, A. M.**, L'immersion du chapeau de vendange. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 79. p. 316.)
- Charles, P.**, Le danger des cuves de vendange. (Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 79. p. 316.)
- Haas, Bruno**, Die Beziehungen zwischen dem Extrakt- und Zuckergehalte eines Mostes und dem Alkoholgehalte des daraus entstandenen Weines. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXI. 1903. N. 40. p. 433. [Weinlaube.])
- Meissner**, Ueber die Herstellung alkoholfreier Traubenweine. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 41. p. 484—485.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Müller-Thurgau, H.**, Die Vergärung an schwefliger Säure reicher Trauben- und Obstsäfte. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXI. 1903. N. 40. p. 426.)
- Ueber die Vergärung von Zitronensäure als Ursache der Erkrankung von Johannisbeerwein. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 41. p. 482—483.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Barthel, Chr.**, Untersuchungen über die Mikroorganismen in der Stallluft, in der frisch gemolkenen Milch und im Euter der Kuh. [Forts.] (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 41. p. 645—647.)
- Bode, G.**, Bakterien im Dienste der Abwässerreinigung. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 41. p. 480—482.)
- Buhlert, H.**, Einiges über die Behandlung des Stalldüngers. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LII. 1903. Heft 17. p. 625—630; Heft 18. p. 647—654.)
- König, J.**, Maßnahmen gegen die Verunreinigung der Flüsse. Berlin (Parey) 1903. 36 p. 8^o. —, 80 M.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen!

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Blitzschlag oder Insektenfraß. (Forstwiss. Centralbl. Jg. XXV. 1903. Heft 8. p. 432—434.)
- Cobb, M. A.**, Letters on the diseases of plants. [Forts.] (Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 8. p. 681—712. 1 Taf. u. 46 Fig.)
- Heck**, Vom Tannenkrebs. (Forstwiss. Centralbl. Jg. XXV. 1903. Heft 9/10. p. 455—472.)

- Krasser, Fridolin**, Die Phthiriose des Weinstockes. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 41. p. 481—482. 2 Fig.)
- Priess, Hermann**, Die wichtigsten Pilzkrankheiten der Kulturpflanzen in: Tierkunde. Ein Lehrbuch f. landwirtschaftliche Schulen. Hildesheim (Selbstverlag) 1903. VIII, 116 p. Gr. 8°. M. Fig. 1,50 M.
- Reiss**, Gipfeldürre der Fichte. (Forstw. Centralbl. Jg. XXV. Heft 9/10. p. 502—504.)
- Ritzema Bos, J.**, De culturabeits. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. 1903. Afl. 4. p. 111—118.)
- Staen, G.**, Invloed van zwavelkoolstof op de kieming der erwt. (Tijdschr. over Plantenziekten. Jg. 1903. Afl. 4. p. 119—123.)
- Volkart, A.**, Der Schwarzrost des Hafers. (Schweiz. Landw. Ztschr. Jg. XXXI. 1903. Heft 39. p. 932—934.)
- Zur Bekämpfung des Weizen-Steinbrandes. (Sächsische landw. Ztschr. 1903. N. 38. p. 806—808.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Adler, Oscar**, Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern, (Schluß), p. 277.
- Ellis, David**, On the discovery of cilia in the genus Bacterium, p. 241.
- Lux, Arthur**, Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien. (Schluß), p. 267.
- Omellianski, W.**, Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. (Forts.), p. 256.
- Ruata, Guido Q.**, Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer. (Schluß), p. 287.
- Sewerin, S. A.**, Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart. (Schluß), p. 260.
- Thiele, R.**, Beiträge zur Methodik der Bodenforschung, p. 251.

Sammlung.

- Jaap, Otto**, Fungi selecti exsiccati. I., p. 294.

Referate.

- Beauverie, J.**, La maladie des plantes, p. 299.
- Bélère, Marguerite**, Quelques observations sur les „criblures en grains de plomb“ qui perforent les feuilles de certains végétaux, cultivés et sauvages des environs de Montfort-l'Amaury et de la forêt de Rambouillet-Seine et Oise, p. 299.

- Chamot, E. M. et Thiry, G.**, Notes sur le pigment du Bacillus polychromogenes, p. 296.
- Daniel, L.**, Peut-on modifier les habitudes des plantes par la greffe? p. 300.
- Dierckx, Fr.**, Essai de revision du genre Penicillium Link, p. 295.
- Hartley, Ch. P.**, Injurious effects of premature pollination with general notes on artificial pollination and the setting of fruit without pollination, p. 300.
- Kita, Toyokichi**, Ueber die Mikroorganismen und Zersetzung des gekochten Reises (japan. B-ē han), p. 294.
- Mangin, L. und Viala, P.**, Sur un nouveau groupe de Champignons, les Bornétinées, et sur le Bornetina corium de la Phthiriose de la Vigne, p. 296.
- Stäger, Rob.**, Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden Claviceps-Arten, p. 297.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

- Dörr, K.**, Ueber die Verwendung von Terpentin beim Fange des Hylobius abietis L., p. 301.
- Trost, C.**, Erfahrungszahlen zum Gebrauche bei der Bekämpfung des Kiefernspinners (Gastropacha pini), p. 300.

Corrigendum p. 301.

Neue Litteratur, p. 302.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner
in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter,
Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith
in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof.
Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr.
Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 31. Dezember 1903.

No. 10/11.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Zur Physiologie des *Bacillus prodigiosus*.

Von **S. Samkow**, Kiew.

Mit 1 Fig.

In verschiedenen Abhandlungen¹⁾, welche der Morphologie und Physiologie des *Bacillus prodigiosus* gewidmet sind, begegnen wir keinen genauen Angaben über den Einfluß verschiedener Nähr-

1) Die Literatur der Frage ist in den Arbeiten von Scheurlen, Geschichtliche und experimentelle Studien über den *Bac. prodigiosus* (Archiv für Hygiene. Bd. XXVI. 1896) und W. Kuntze, Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung des *Bac. prodigiosus* (Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XXXIV. 1900) ausführlich angegeben.

substrate auf die Entwicklung desselben. Um diese Lücke einigermaßen auszufüllen, habe ich einige Versuche mit diesem Organismus angestellt; die Resultate derselben möchte ich hier mitteilen. Für meine Kulturen benutzte ich die Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

Asparagin	10 g
Glukose	5 "
KH_2PO_4	2 "
Na_2CO_3	2,5 "
MgSO_4	0,4 "
Wasser (destill.)	1 l

In dieser Lösung entwickelte sich *Bac. prodigiosus* unter Bildung des roten Pigments. Als Stickstoffquellen dienten in den Kulturen außer Asparagin auch Pepton, Ammonsalze, Hippursäure, salzsaures Anilin, Harnstoff, Chinolin, Pyridin. Diese Versuche wurden mit verschiedenen ternären Kohlenstoffverbindungen angestellt und die Resultate sind in folgender Tabelle angegeben, in welcher die Entwicklung der Bakterien mit +, die Nichtentwicklung mit — bezeichnet ist:

	Pepton	Asparagin	NH_4NO_3	NH_4Cl	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
Glukose	+	+	+	+	+	+
Milchzucker	+	+	+			
Stärke	+	+				
Dextrin	+	+				
Mannit	+	+	+	+	+	+
Glycerin	+	+	+			
Alkohol	+	+	+			
Milchsaures Calcium	+	+	+			
Weinsaures Kalium	+	+	+			
Saures citronensaures Kalium	+	+	+	+	+	+
Malonsäure	+	+	+			
Apfelsäure	+	+	+			
Oxalsäure	+	+	—	—	—	—
Chinasäure	+	+	+	+	+	+
Mandelsäure	+	+	—	—	—	—
Bernsteinsäure	+	+				
Glykolsäure	+	+				
Pyroweinsäure	+	+				
Fumarsäure	+	+				
Malleinsäure	+	+				
Amygdalin	+					
Salicin	+					

	Salzsaures Anilin	Hippursäure	Chinolin	Pyridin	Harnstoff
Glukose	—	—	—	—	+

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß *Bac. prodigiosus* wohl imstande ist, den Kohlenstoff aus einer geschlossenen Kette zu benutzen, obwohl das negative Verhalten der Mandelsäure + Ammon-

salze dagegen zu sprechen scheint. Möglich ist es, daß die Anhäufung mehrerer Hydroxylgruppen bei der Chinasäure die Entziehung des Kohlenstoffs erleichtert. Der Stickstoff ist in keinem von den obengenannten Fällen aus einer geschlossenen Kette entzogen worden.

Verschiedene Aenderungen der ersten Nährlösung (Asparagin + Glukose) ergaben folgende Resultate: Bei Abwesenheit von Glukose, sowie von Na_2CO_3 ging die Entwicklung ebensogut von statten wie bei deren Anwesenheit; als aber die Nährlösung ohne MgSO_4 benutzt worden war, entwickelte sich *Bac. prodigiosus* ohne Bildung des Pigments. Aus diesem Grunde wurde bei jedem Versuche mit Nährlösungen, in denen alle drei obengenannten Salze (KH_2PO_4 , Na_2CO_3 , MgSO_4) enthalten waren, stets ein Kontrollversuch ohne MgSO_4 vorgenommen. In diesem Falle ging die Entwicklung des *Bac. prodigiosus* ohne Auftreten des Pigments vor sich.

Um der Lösung der Frage über die Rolle verschiedener Nährstoffe in der Pigmentbildung des *Bac. prodigiosus* näher zu treten, habe ich einige Versuche angestellt, deren Resultate in der folgenden Tabelle angegeben sind. Wie in der vorigen, sind hier die positiven Resultate (das Auftreten des Pigments) mit +, die negativen mit — bezeichnet:

Glukose + MgSO_4		Chinasäure + MgSO_4
NH_4NO_3 + KH_2PO_4	—	+
„ + KCl	—	—
„ + KH_2PO_4 , KCl	+	+
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + KH_2PO_4	—	+
„ + KCl	—	—
„ + KNO_3	—	—
„ + KH_2PO_4 , KCl	+	+
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ + KCl	+	+
„ + KNO_3	—	+
NH_4Cl + KH_2PO_4	+	+
„ + KNO_3	—	—
Asparagin + KH_2PO_4	+	+
„ + KCl	—	—
„ + KNO_3	—	—

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß außer MgSO_4 und Phosphor (KH_2PO_4) in manchen Fällen auch Chlor (KCl) nötig ist, um die Bildung des Pigments hervorzurufen. Als Kontrollversuche wurden alle obengenannten Kulturen ohne MgSO_4 angestellt und ergaben, wie bereits erwähnt, immer ein negatives Resultat — Entwicklung ohne Bildung des Pigments.

Um das aktive Element des Magnesiumsulfats zu bestimmen, habe ich Versuche vorgenommen, in denen die Nährlösung Asparagin + Glukose + KH_2PO_4 + Na_2CO_3 genommen wurde und zu derselben in einzelnen Kulturen Magnesium- und Schwefelverbindungen addiert wurden. So wurden folgende Nährlösungen zusammengesetzt:

- | | | |
|---|--|---|
| 1) Asparagin
Glukose
KH_2PO_4 , Na_2CO_3
MgSO_4 | 2) Asparagin
Glukose
KH_2PO_4 , Na_2CO_3
MgCl_2 | 3) Asparagin
Glukose
KH_2PO_4 , Na_2CO_3
K_2SO_4 |
| | 4) Asparagin
Glukose
KH_2PO_4 , Na_2CO_3
Na_2SO_4 | |

In den Nährlösungen 1 und 2 bildete sich das Pigment stark, dagegen wurde in den Nährlösungen 3 und 4 keine Bildung des Pigments bemerkt.

Aus allen diesen Versuchen kann man mit genügender Sicherheit feststellen, daß das Magnesium unbedingt bei der Bildung des Pigments notwendig ist.

Nun tritt die wichtige Frage auf, ob dieses Element ein Bestandteil des Pigments sei, oder ob es nur notwendig für die physiologische Funktion des Protoplasmas ist, welches das Pigment bildet.

Um diese Frage zu beantworten, habe ich das Pigment auf Anwesenheit von Magnesium geprüft.

Von einer Kartoffelkultur, 6 Tage alt, wurde die rote Masse abgenommen, mit 96-proz. Alkohol bei Zimmertemperatur extrahiert und filtriert. Die resultierende Flüssigkeit war dunkelrot; diese Flüssigkeit wurde bei Zimmertemperatur vorsichtig verdunstet, dabei blieb ein roter Rückstand zurück, der in Aether gelöst und filtriert, eine tiefrote Lösung ergab. Nachdem der Aether ebenfalls verdunstet war, blieb ein roter körniger Niederschlag zurück, der nochmals in Alkohol gelöst und aus dieser letzten Lösung bei deren Verdunsten ausgeschieden war. Das so erhaltene reine Pigment wurde dann vorsichtig verbrannt und die Asche, die etwa 6 Proz. des Pigmentgewichts betrug, in Salzsäure gelöst.

Zur Bestimmung des Magnesiums diente die äußerst empfindliche Reaktion, die von Wiedemann und Ebert¹⁾ angegeben ist. Diese Prüfung ergab keine Spuren von Magnesium in der Asche.

Die spektroskopische Untersuchung der alkoholischen Lösung des Pigments, welche mittelst des Mikrospektrometers von Sorby-Brown ausgeführt war, ergab folgende Resultate:

1) Die stark konzentrierte Lösung des Pigments zeigte eine Absorption, die sich vom Gelben des Spektrums mit einer Wellenlänge von $614 \mu\mu$ bis zum Ende desselben ausdehnte.

2) Bei einer halb verdünnten Lösung trat die Absorption nach rechts von $580 \mu\mu$ auf.

3) Bei einer 4 mal verdünnten Lösung trat die Absorption noch weiter nach rechts auf und begann mit $570 \mu\mu$.

4) Bei einer Lösung, die 16 mal dünner als die ursprüngliche war, erschien der dunkle Streifen etwa in der Mitte des Spectrums zwischen $554-486 \mu\mu$ (vom gelbgrünen Teil bis zur Linie F).

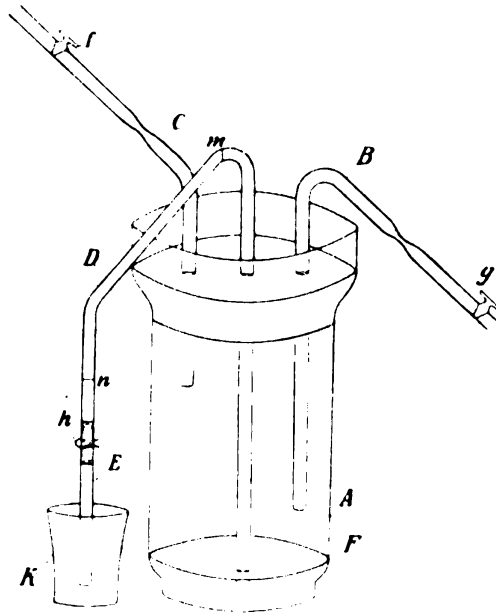
1) Physikalisches Praktikum. p. 300.

Das anaerobe Leben des *Bacillus prodigiosus*.

In seiner Arbeit über die Physiologie des *Bac. prodigiosus* hat Ritter ¹⁾ gezeigt, daß „Pepton allein genügt nicht zur anaeroben Entwicklung des *Bac. prodigiosus*. Letzterer bedarf dazu vielmehr einer zweiten Kohlenstoffquelle, wie Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose“. Aus diesem Grunde hat Ritter den *Bac. prodigiosus* zu den fakultativ anaeroben Organismen gerechnet. Meine in dieser Richtung vorgenommenen Versuche haben diese Meinung nicht bestätigt.

Was die Versuchsanstellung der anaeroben Kulturen von Ritter betrifft, so muß ich gestehen, daß diese keine vollständige Garantie bietet, daß wirklich kein Sauerstoff in den Versuchsgläsern war; ebensowenig war sein Apparat gegen ferneres Eindringen äußerer Luft zwischen dem Gummipfropfen und dem Glase geschützt. Das Einführen der Pyrogallussäure in den Apparat vor dem Evakuieren vermindert ihre Fähigkeit, den Sauerstoff zu absorbieren, der eventuell noch eindringen kann. Die Tatsache, daß das Pyrogallat nicht dunkler wurde, ist durchaus kein zuverlässiger Beweis der Abwesenheit des Sauerstoffs und ist vielmehr der schwachen Konzentration des Aetzkali zuzuschreiben. Bei meinen Versuchen habe ich die obengenannten Uebelstände durch eine andere Konstruktion des Apparates zu vermeiden gesucht.

Der Apparat bestand aus einem Glascylinder *A*, der durch einen gewöhnlichen, mit Paraffin getränkten Pfropfen geschlossen war. Durch den Pfropfen waren 3 Glasröhrchen luftdicht eingeführt: durch das eine *B* wurde in den Cylinder reiner Wasserstoff eingeführt, das Rohr *C* war mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden; das Rohr *D*, welches bis zum Boden des Cylinders reichte, war mittelst eines Stückchen Gummischlauchs, an dem ein Quetschhahn angebracht war, mit einem kleinen Röhrchen *E* verbunden. Vor dem Beginn des Versuches wurde auf dem Boden des Cylinders eine genügende Menge der trockenen Pyrogallussäure angebracht. Auf den unteren Rand des Cylinders *F* wurde eine durchlöcherichte Eisenplatte gelegt, auf der die Probierröhrchen mit verschiedenen Kulturen gestellt wurden. Der Cylinder wurde mit dem Pfropfen dicht verschlossen, der Pfropfen mit geschmolzenem Paraffin be-



1) Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 206.

deckt. Dann wurde auf den Pfropfen eine Quecksilberschicht, ca. 1 cm dick, gegossen; das Gefäß *K* war dabei bis zur Hälfte mit Quecksilber gefüllt.

Nun konnte der Apparat in Tätigkeit gesetzt werden. Der Hahn *f* wurde geöffnet, dagegen blieb der Hahn *g* geschlossen und die Wasserstrahlpumpe in Tätigkeit gesetzt. Nach ca. 2 Minuten wurde der Hahn *f* geschlossen, dagegen *g* geöffnet und Wasserstoff aus dem Kippschen Apparat eingelassen. Dann wurde von neuem der Hahn *g* geschlossen und der Hahn *f* geöffnet, das Gefäß *A* evakuiert, u. s. w.

Dieses Verfahren wiederholte ich nicht weniger als 100 mal. Außerdem wurde bei jedesmaligem Öffnen des Hahnes *f* auch der Quetschhahn *h* geöffnet, so daß das Quecksilber bis *m* hineinstieg. Beim Eindringen des Wasserstoffs wurde wieder der Quetschhahn *h* geöffnet und das Quecksilber sank bis *n*.

Nach dem genügenden Ersetzen der Luft durch den Wasserstoff wurde in das Gefäß *K* über der Quecksilberschicht 25 Proz. Aetzkalkilösung eingegossen; das Quecksilber wurde aus dem Rohr *D* gänzlich in das Gefäß *K* verdrängt und die Mündung des Rohres *E* bis in die Aetzkalkilösung gehoben. Als dann der Druck im Cylinder *A* etwas vermindert war, trat die Kalkilösung durch das Rohr *D* in den unteren Teil des Cylinders und löste die Pyrogallussäure auf. Die dabei entstandene Lösung war fast in allen Versuchen hellbraun. Dann wurden die beiden Röhrchen *B* und *C* zugeschmolzen, in das Rohr *D* eine kleine Menge Quecksilber eingeführt, das Röhrchen *E* abgenommen und durch ein Glasstäbchen ersetzt; die Isolierung konnte als eine genügende betrachtet werden, und tatsächlich blieb die Lösung des Pyrogallats während des ganzen Versuches unverändert hellbraun.

Zahlreiche Versuche, die mit diesem Apparate angestellt wurden, haben gezeigt, daß sich der *Bac. prodigiosus* auch unter günstigsten Nährverhältnissen, d. h. beim Darbieten von Pepton und Glukose, bei genügendem Evakuieren des Sauerstoffs nicht entwickelte.

Um mich zu überzeugen, daß wirklich nur die Abwesenheit des Sauerstoffs die Entwicklung des *Bac. prodigiosus* hemmte und nicht etwa andere Uebelstände mitwirkten, habe ich die Reagenzgläschen, in denen bei Abwesenheit von Sauerstoff nach 6 Tagen keine Entwicklung eintrat, bei Luftzutritt stehen gelassen; dann entwickelte sich der *Bac. prodigiosus* in bekannter Weise (unter Ausscheidung des roten Pigments bei Anwesenheit des Magnesiumsulfats).

Die Resultate meiner Arbeit können in folgende 2 Sätze gefaßt werden:

1) Das Auftreten des roten Pigments des *Bac. prodigiosus* ist durch Anwesenheit von Magnesium bedingt, welches aber keinen Bestandteil des Pigments bildet.

2) Der *Bac. prodigiosus* ist kein fakultativ anaërober Organismus.

Diese Arbeit wurde im Botanischen Institut der Kaiserlichen Universität zu Kiew unrer Aufsicht des Herrn Prof. K. Puriewitsch ausgeführt, dem ich an dieser Stelle meinen innigsten Dank auszusprechen für eine angenehme Pflicht halte.

17. (30.) September 1903.

Nachdruck verboten.

A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment.

By Mary Hefferan, Ph. D.,

Bacteriological Laboratory, the University of Chicago, U. S. A.

Introductory.

The mechanical difficulties of observing structures so minute as bacteria have led to the accumulation of much differential detail, and to an insistence on all points of unlikeness in physiological characters or cultural reactions. Further, the lack of uniform methods and standards of comparison has tended to produce an overwhelming multiplicity of inadequate species-descriptions, in which any slight variation from existing descriptions, e. g. as regards formation of colonies on gelatine, has been erected into a character of specific importance. But with the publication of Marshall Ward's series of studies on Thames bacteria, of Fuller and Johnston's work on the bacteria of the Ohio River, and of Jordan's paper on some 600 germs found in the Mississippi River, a check has been put to indiscriminate multiplication of bacterial "species". Recently, again, the demonstration of linking intermediate paratyphoid, and enteritidis forms in the colon-typhosus group and of the marked range of individual variation occurring in other organisms has rendered especially important the questions of variability and of the actual lines between "species", "varieties", and "races".

The chromogenic bacteria afford, from the fact of their pigmentation, a particularly suitable field for observation; and the non-parasitic nature of the special group here considered is another factor favorable for comparative and for variation study. The warping effect of parasitic life upon the physiological and morphological character of organisms is well known, and more characteristic results are to be anticipated from the study of variation in a group of saprophytic organisms than in a group of pathogenic organisms.

The agreement, among a number of bacteria, in a characteristic so marked as is pigment production, might conceivably place a series of red or yellow chromogenic germs in a category by themselves, and raise the question whether this agreement in color production be paralleled by agreement in biochemical and other features, and whether the pigmentation be a fixed, a variable, or a vital character of the organisms. So far, however, attention has not been directed to a series of chromogenic germs, with the

exception of the comparative work done by Thumm, by Růžička, and by Jordan a strains of *B. pyocyaneus*, and of the chemical studies on bacterial pigments in general, referred to below. The best known of the red saprophytes, *B. prodigiosus*, has been quite fully discussed since its first descriptions; but no more than two or three of its nearest relatives have at any time been included with it in the study.

The parallel treatment attempted in this paper possesses certain points of value; but comparison of the relatively large number of organisms has its obvious disadvantages as well as its advantages. The number brought under discussion is plainly too great to permit, in limited time and space, of extending the work on each germ into detail, or of carrying out all possible tests, chemical, spectroscopic and physiological. But, on the other hand, the comparison of so many red chromogenic bacteria must throw some light on general features of relationship and variability which are apt to be obscured or lost sight of when attention is concentrated on a single organism or on a small group.

With these considerations in mind, I have attempted comparative study of the following series of forty cultures of red chromogenic bacilli. A few of these, often referred to in bacteriological literature, have been more or less completely studied as individuals, e. g. *B. prodigiosus*, *B. kiliensis*, *B. lactis erythrogenes*; but the majority, though frequently mentioned, have received only the most cursory descriptions. I have therefore prefixed to my comparative notes a brief description of each "species" here discussed. Red chromogenic bacilli not included in my list will be found in table II of the appendix, where are also tabulated the data regarding my series.

As an aid in determining the specificity of some members of the series, I obtained from various laboratories eight cultures of *B. prodigiosus*; the range of variability thus demonstrated for that species and the other parallels or differences between the allied cultures have suggested my closing note on grouping and differentiation.

Red chromogenic bacilli described in this paper.

- | | |
|---|---|
| <i>B. prodigiosus</i> (Ehrenberg) | I—VIII |
| " " | I, from University of Chicago. |
| " " | II, from Rush Medical College, Chicago 1902. |
| " " | III, from Board of Health, Chicago 1902. |
| " " | IV, from University of Minnesota 1903. |
| " " | V, from University of Minnesota 1903. |
| " " | VI, from Yale University, 1903. |
| " " | VII, from Ontario, 1903 |
| " " | VIII, from University of Michigan, 1903. |
| <i>B. ruber indicus</i> (Koch) | I, from Král's Laboratory, 1900. |
| " " | II, from Rush Medical College, Chicago 1902. |
| | Obtained by them from Parke, Davis & Company, Detroit, 1899, obtained by the latter from the University of Michigan (?) several years before. |
| <i>B. ruber plymouthensis</i> (Fischer) | I, from Král's Laboratory, 1899. |
| " " | II, from air at Cold Spring Harbor, L. I. (= No. 18) 1901. |
| " " | III, air at Cold Spring Harbor (= No. 19) 1901. |

- B. kiliensis* (Breunig) from Rush Medical College, Chicago 1902; obtained by them from Parke, Davis & Company, 1899.
B. ruber balticus (Breunig, Kruse) from Král's Laboratorium, 1900.
B. miniaceus (Zimmermann) I, from Král's Laboratorium, 1901.
 " " " II, from Hoagland Laboratory, Brooklyn 1899.
 " " " III, from Rush Medical College, 1902; obtained by them from Hoagland Laboratory, Brooklyn.
B. rutilus (n. sp.) from the water of the Mississippi River, 1899.
B. amylo-ruber (n. sp.) from the water of the Mississippi River, 1901.
B. fuchsinus (Boekhout and De Vries) from Král's Laboratorium, 1900.
B. ruber (Miquel) from Král's Laboratorium, 1900.
B. rubricus (n. sp.) from the water of the Mississippi River, 1901.
B. rufus (n. sp.) from the water of the Mississippi River, 1901.
B. ruber (Zimmermann) from Král's Laboratorium, 1900.
B. havaniensis (Sternberg) from University of Chicago.
B. lactis erythrogenes (Hueppe) I, from Král's Laboratorium, 1900.
 " " " II, from the Mississippi River, 1901.
B. rubefaciens (Zimmermann) from Král's Laboratorium, 1900.
B. lactorubefaciens (Gruber) from Gruber, 1902.
B. rutilescens (n. sp.) from the water of the Mississippi River, 1901.
B. mycoides roseus (Scholl) from Král's Laboratorium, 1900.
B. mycoides corallinus (n. sp.) from the water of the Mississippi River, 1899.
B. latericeus (Adametz) from Král's Laboratorium, 1900, 1903.
B. rubro pertinctus (Grassberger) from Král's Laboratorium, 1902; not named by Grassberger.
B. rosaceus metalloides (Tataroff) from Král's Laboratorium, 1900¹).
B. mesentericus ruber (Globig) I-IV
 " " " " I, from Král's Laboratorium, 1900, 1903.
 " " " " II, from the water of the Mississippi River, 1901.
 " " " " III, IV, from the water of the Mississippi River, 1901.

Historical.

B. prodigiosus is usually taken as a type of red pigment producing bacteria, and is said to be the earliest chromogenic bacterium known. Considering, however, the frequency with which there are found in air different varieties of red pigment germs not identical with, but much like *Prodigiosus*, the history usually connected with the name of *Prodigiosus* probably extends to many varieties of this type.

The frequency with which certain of the red chromogenic bacteria appear upon food-stuffs has been a matter of observation for centuries. Lucian, in one of his dialogues (2^d century A. D.), makes Pythagoras give, as reason for forbidding his disciples to eat beans, the fact that white cooked beans, if placed in the moonlight, change into blood. Since the forbidding of beans as food is common to various sects of ancient times, e. g. to the Egyptian priests and to the Zoroastrians, from which latter Pythagoras doubtless obtained the notion, the recognition of this pigmentation appears to be of extreme antiquity. In the year 332 B. C. the so-called "blood-miracle" was of service to Alexander the Great in the conquest of Tyre. The bread of his besieging army was discovered to be reddened when broken; but the priests quieted the

1) Previously described by the writer, cf. An unusual bacterial grouping. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1902. p. 690.)

terrified soldiery by interpreting the omen to mean, that as the "blood" was inside the bread, a bloody fate would fall upon those inside, not outside, the city. For the story see Curtius Rufus, Hist. Alexandri, chap. 2, bk. 4.

The phenomenon of the "bleeding host", so often regarded as a miracle in the middle ages, was due to a similar cause. The composition of the sacramental bread, rich in starch and poor in acid, was well adapted to the rapid growth of *Schizomycetes*; but the popular explanation of the phenomenon was that the host had been stakked by unbelieving fews.

The number of executions and murders due to this belief was so great that Scheurlen, in alluding to it, remarks that "dieser Saprophyt mehr Menschen umgebracht hat als mancher pathogene Bacillus".

Three nineteenth century appearances of this "blood miracle" as epidemic in a town or neighborhood, are of interest. In the year 1819, at Legnaro, near Padua, Italy, the whole district was set in commotion by the appearance of red spots upon food. An investigation was undertaken by physicians and professors of the University of Padua, the fungus nature of the growth was discovered, and two separate names given to it. Bizio (23) called the organism *Serratia marcescens*, the *Serratia* in compliment to the savant who first propelled a boat by steam on the Arno. His generic description is of interest: — — "Fungulia caules, semi-sphaerica, capsulis contortis. *Serratia marcescens*. Vesicula tenuissima, latice primo roseo, dehinc rubro repleta." Bizio reprinted his paper of 1823 in volume I of his *Opuscoli chimico-fisico*, 1827, and several times later asserted his claim to priority in the investigation of *B. prodigosus*. Meanwhile, the same epidemic of Legnaro had been reported by Sette (25), and the name of *Zoogalactina immetropa* given to the organism. More than twenty years later, in January 1844 there appeared in the *Journal de Pharmacie* a report by various members of the French Academy of Sciences who had been commissioned to investigate a reddening of the munition bread which was exciting among the French soldiery much the same agitation as had prevailed among the troops of Alexander. This report, and the treatment of the phenomenon as new, brought out a letter from Bizio (24), emphasizing his work of twenty-four years earlier, and giving the reference to it. However, the next noteworthy epidemic of the sort in Berlin in 1848, investigated by Ehrenberg (26), has not only fixed upon the organism the name *Prodigosus* then given to it, but has connected the name of the German scholar with its discovery.

Since Ehrenberg's monograph many investigators have dealt with the biological characteristics and the pigment of *B. prodigosus*. Other red germs came much later into the field of study; thus, *B. ruber indicus* was first described in 1884. *B. ruber plymouthensis* by Fischer in 1887, *B. mesentericus ruber* (Globig) in 1888, and *B. lactis erythrogenes* (Hueppe) in 1889, etc.

B. prodigiosus (Ehrenberg).

This most common of all the pigment forms has been so completely described within the last few years that I can add little except in confirmation or contradiction of the results already obtained. The following description of my culture *B. prodigiosus* I, believed to be typical, will be used as a standard for comparison of a series of similar forms.

Morphology.

Ehrenberg described his organism as a monad. Erdmann (28), when it appeared in the cholera epidemic of 1866, called it a bacillus. Schroeter (29, 1872) named it *Bacterium prodigiosum*, meaning by his use of the term *Bacterium* that it was non-motile. It was first called a *Micrococcus* by Cohn (30) in 1892, and was known as such until Schottelius (35) in 1887 described it as a motile rodlet. Wasserzug (37) (1888) thought he could produce the coccus or the bacillus form at will by growth on alkaline or acid agar. In 1896 Scheurlen (43) made a careful description of the morphology of *B. prodigiosus*; a twoday culture in neutral bouillon showed a rod 1.5—2 times as long as broad, with rounded ends. On the long side were 2—4 flagella. On a two-day potato culture, the rods were smaller, ellipsoid, and capsulated. Scheurlen ascribed this variation to the production of unstable alkali (ammonia) by the organism itself. The same thing was true for alkaline media. Finally, Migula (10) (1900) adds, that the bacillus is 0.5 μ broad and from 0.5—1.0 μ long, sometimes occurring in chains of 2—6 bacilli. Motility increases and rodlike form becomes more marked in slightly acid media. Flagella are peritrichial, but vary in number and length.

Cultural features¹⁾.

Gelatine. Investigators have not differed as to the growth of *B. prodigiosus* on gelatine and agar. On a gelatine plate the growth takes place quickly; after twenty-four hours at 20—25° C, the deep colonies appear round, sharply contoured, granular and gray. The surface colonies are thinner and more granular, white, and round or slightly irregular on the edges. On the following day the gelatine is completely liquefied, a red color appears, and later the whole liquid becomes red and cloudy.

In a vigorous gelatine stab culture a deep funnel of liquefaction appears in 24 hours. Pigment appears in 48 hours, and the gelatine is rapidly liquefied to the bottom of the tube and colored red throughout. Usually no pellicle is formed. The rapidity of liquefaction as well as of pigment production varies according to the quality of the medium and the degree of vigor of the cultures.

Agar. The character of the colonies on an agar plate is quite uniform. In 24 hours the colonies appear in the depths, ellipsoid, granular, and reddish. On reaching the surface they spread out round, thinner, and granular, becoming bright red. The color appears first in the center, and under low power the edges

1) Unless otherwise specified, observations were made at room temperature.

are thin, transparent, and finally granular. The diameter reaches 3—7 mm in five days.

On agar slant growth appears first as a white smooth moist layer, in 24 hours becoming bright red. In three or four days a green fuchsin-like lustre appears on the surface. Old cultures grow darker in color (cf. table in section on pigment).

Potato. This was the culture medium used by the early investigators. The growth and pigment production are here most beautiful, particularly if the potato is fresh and slightly acid. A white line appears in twelve to eighteen hours, which rapidly turns red. The growth is luxuriant and the surface takes on a green metallic lustre in a few days, while the red color spreads over the potato by means of the film of moisture. If the potato is dry, growth and pigmentation are limited to the needle tract, and the superficial green appears as an abundant, dull, granular layer.

Blood serum. The growth is like that upon agar, but slighter. The medium later undergoes liquefaction.

Bouillon. Ordinary neutral bouillon becomes cloudy in 12 to 18 hours. Later a ring of red color appears at the surface and a flocculent red and white sediment accumulates. The surface sometimes has a slight red pellicle and the whole liquid may be tinged red.

Milk. In milk the red color appears at the surface, the pigment, according to Flüge (3) and Migula (10), adhering to the fat droplets. A soft solid coagulum is formed in 48 hours by the simultaneous formation of "Milchsäure und Labferment" [Gorini (41)]. In ten days the coagulum shrinks to half its size leaving a clear watery serum. Little or no peptonization takes place.

Gas production. The question of the production of gas in sugar solutions by *B. prodigiosus* has occasioned some discussion. Liborius (34, 188) described gas development by *B. prodigiosus* in dextrose gelatine. Schottelius (35, 1887) stated that this organism possessed in a marked degree the power of converting sugar solution into alcohol and CO_2 , a statement which has been embodied in Fränkel's text book (4). Scheur-len, however, disagrees with this conclusion of Schottelius. He found that, in a peptone solution to which 2 % sugar had been added, a gas bubble appeared upon inoculation with *B. prodigiosus*, did not increase, and, because of its absorption by NaOH , was proved to be CO_2 ; but he believed this to be the result of the action of succinic acid (which he had shown to be a product of *B. prodigiosus* in potato culture) upon the sodium carbonate used to neutralize the bouillon. When he tried a sugar peptone bouillon neutralized by sodium-phosphate, or one to which no alkali had been added, or an asparagin sulphate phosphate, sugar solution, he obtained no gas bubble. The bubble appeared, however, when *B. prodigiosus* was grown in any medium which had been neutralized by Na_2CO_3 , even when the medium contained no sugar. He also obtained gas without the presence of *B. pro-*

digiosus merely by the addition of a little succinic acid to the medium. Ritter (41, 1900) confirms Scheurlen, and says that the gas of Liborius and Schottelins was only a chemical product of the action of succinic acid, which *B. prodigiosus* forms from sugar upon Na_2CO_3 .

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben.

Von W. Omellianski.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im
Kaiserl. Inst. f. experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Die Resultate der Versuche waren in der aëroben wie in der anaëroben Reihe die gleichen. Schon am folgenden Tage nach der Impfung gerieten in Gärung: Glukose, Galaktose; Milchzucker, Mannit, Dulcit, Arabinose und Maltose. Gar keine Gärung lieferten: Rohrzucker, Stärke, Dextrin, Inulin, Gummi, Aethylenglykol, Glycerin und Erythrit. Von den Kohlehydraten besitzen also alle geprüften Glukosen (darunter auch Pentaglukose) und die Saccharosen, mit Ausnahme des Rohrzuckers, die Gärungsfähigkeit, dagegen gären die Polysaccharide nicht. Unter den wertigen Alkoholen gären nur die sechsatomigen: Mannit und Dulcit, während die Alkohole von niedrigerer Atomenzahl: Aethylenglykol, Glycerin und Erythrit, nicht gären.

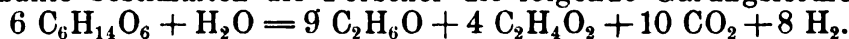
In Rücksicht auf die morphologische Aehnlichkeit des *Bact. formicicum* und des *Bacillus methylicus* Loews erschien es interessant, das Verhalten unseres Mikroben gegen Methylalkohol zu untersuchen. Zu diesem Behufe wurden gemäß den Angaben von Loew 0,5 Proz. Methylalkohol einer Lösung von Mineralsalzen zugesetzt (die Lösung wurde gesondert sterilisiert und der Alkohol zu derselben erst nach der Abkühlung hinzugefügt), und sodann mit einer Reinkultur des *Bact. formicicum* geimpft. Sowohl unter aëroben als auch unter anaëroben Bedingungen wurde nicht die geringste Spur von Wachstum bemerkt.

Da in den vorläufigen Gärungsproben unser *Bacillus* besonders energisch Mannit und Dulcit vergärte, so wählten wir gerade diese Stoffe, um die Gärungsprodukte vollständig zu studieren.

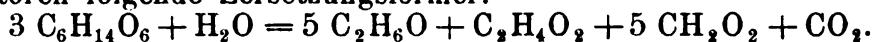
Ueber den ersteren der beiden finden sich in der Literatur etwas mehr Angaben, doch datiert leider ein großer Teil derselben aus einer Zeit, wo man noch nicht mit Reinkulturen arbeitete, weshalb die erzielten Resultate manchem Zweifel Raum geben. Gerade zu solchen Arbeiten sind diejenigen von Fitz über die Mannitgärung¹⁾ zu rechnen. Deshalb wollen wir uns bei denselben nicht aufhalten und zu den Arbeiten der späteren Forscher übergehen.

1) Fitz, A., Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. X. p. 276; Bd. XV. p. 867. Bd. XVI. p. 844.

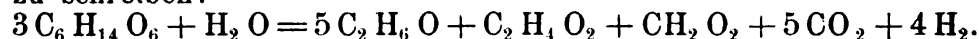
Im Jahre 1891 haben Frankland, Stanley und Frew¹⁾ die Gärung des Mannits bei Impfung mit dem Friedländer'schen *Pneumococcus* beschrieben. Außer Gasen (H_2 und CO_2) wurden bei der Gärung hauptsächlich Aethylalkohol und Essigsäure (mit etwas Ameisensäure), sowie auch Spuren einer nicht flüchtigen Säure (wahrscheinlich Bernsteinsäure) erhalten. Durch approximative Berechnung der Quantitäten der ausgeschiedenen Produkte bestimmten die Forscher die folgende Gärungsformel:



Im Jahre 1892 haben Frankland und Lumsden²⁾ einen Versuch über Mannitgärung bei Impfung mit dem *Bact. ethaceticus* angestellt. Auf Grund der erhaltenen Daten geben die Autoren folgende Zersetzungsformel:



Obwohl bei der beschriebenen Gärung Wasserstoff ausgeschieden wird, führen die Autoren denselben mit dem gleichen Volumen Kohlensäure als Ameisensäure an, indem sie annehmen, daß diese Gase durch Zerfall von anfänglich gebildeter Ameisensäure entstehen. Diese letztere Annahme sprechen die Autoren aus, ohne sich auf direkte Beobachtung zu stützen, und es wäre daher nach Duclaux³⁾ Meinung auf Grund der analytischen Daten der Autoren richtiger, die betreffende Formel folgendermaßen zu schreiben:



Die Ameisensäure ist hier doch in die Formel hineingebracht, da ja eine geringe Beimengung derselben zur Essigsäure von den Autoren konstatiert worden ist.

Natürlich müssen wir alle diese Formeln nur als Ausdruck für einzelne Gärungsfälle unter bestimmten Verhältnissen ansehen, ohne ihnen eine allgemeine Bedeutung beizumessen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß unter veränderten Verhältnissen nicht nur andere relative Mengen derselben Produkte, sondern möglicherweise auch ganz neue Produkte auftreten werden.

In demselben Jahre 1892 hat Frankland in Gemeinschaft mit Frew⁴⁾ einen besonderen *Bacillus* isoliert, welcher Mannit unter Bildung von Aethylalkohol und Essigsäure (mit Beimengung von Ameisensäure), sowie auch Bernsteinsäure vergärt. Die Autoren geben der durch diesen *Bacillus* hervorgerufenen Gärung des Mannits folgende Formel:



Es erübrigt noch, die Arbeit von Pottevin⁵⁾ zu erwähnen, welche im Jahre 1898 veröffentlicht worden ist. Dieser Forscher untersuchte die Mannitgärung bei Infektion mit dem Milchsäure-

1) Frankland, Percy F., Stanley, Arthur and Frew, W., *Fermentations induced by the Pneumococcus of Friedländer*. (Journal of the chem. Society. Vol. LIX. 1891. p. 253.)

2) Frankland, P. und Lumsden, *Journal of the chem. Soc.* Vol. LX. p. 432.

3) Duclaux, *Traité de Microbiologie*. T. IV. p. 107.

4) Frankland and Frew, *Journ. of the chem. Soc.* Vol. LX. p. 254.

5) Pottevin, *Ann. de l'Inst. Pasteur*. T. XII. p. 49.

ferment, welches er aus Zwiebelsaft isoliert hatte. Die Gärung verläuft recht träge, selbst dann, wenn man beträchtliche Mengen Pepton zusetzt (2–3 Proz.). Bei der Zersetzung von 100 g Mannit wurde nach Ablauf von 2 $\frac{1}{2}$ Monaten erhalten:

Aethylalkohol	9,7
Essigsäure	5,0
Ameisensäure	4,9
Rechtsdrehende Milchsäure	62,1

Aus den angeführten Literaturdaten läßt sich der Schluß ziehen, daß bei der Mannitzersetzung durch Mikroorganismen fast immer Aethylalkohol und Essigsäure mit Beimengung von Ameisensäure als gewöhnliche Zerfallsprodukte auftreten. Außer diesen Stoffen werden bisweilen auch nicht flüchtige Säuren gebildet, hie und da in sehr beträchtlichen Mengen, wie im Versuche Potté v. s.

Für einen quantitativen Versuch über die Gärung des Mannits unter dem Einflusse der Reinkultur des *Bacterium formicum* wählten wir einen langhalsigen Kolben von ungefähr 470 ccm. Inhalt, welcher mit einem Kautschukstopfen, der ein Gasableitungsrohr hindurchließ, verschlossen wurde. Der Hals des Kolbens besaß am oberen Ende eine napfförmige Erweiterung, welche gestattete, den Kautschukstopfen mit Quecksilber zu übergießen.

In den Kolben wurden 20 g Kreide gebracht und dieser sodann ganz mit Flüssigkeit gefüllt, welche enthielt:

Mannit	2 Proz.
Phosphorsaures Kali	0,1 „
Phosphorsaures Ammon	0,1 „
Schwefelsaure Magnesia	0,05 „
Chlornatrium	0,02 „

Am 16. Februar 1902 wurde der Kolben bei 115° sterilisiert und darauf mit einer Oese reiner Agarkultur des *Bact. formicum* geimpft. Der Kolben wurde bei 35° C gehalten.

Die Gärung begann am Morgen des folgenden Tages, begleitet von überaus heftiger Gasentwicklung. Sämtliche ausgeschiedenen Gase werden in Gasmessungsrohre aufgefangen und der Analyse unterworfen. In der untenstehenden Tabelle sind die erhaltenen Resultate zusammengestellt (s. p. 320).

Aus den angeführten Daten ersehen wir, daß die Mannitgärung sich durch eine ungewöhnlich reichliche Gasentwicklung auszeichnet. Während der ganzen Dauer der Gärung wurden 3210,436 ccm Gas aufgefangen, und zwar:

Kohlensäure	1949,693 ccm oder 3,855 g und
Wasserstoff	1260,743 ccm „ 0,113 g.

In den ersten, deutlich nach Aethylalkohol riechenden Gasportionen prävalierte der Wasserstoff, weil ein Teil der Kohlensäure sich in der Gärungsflüssigkeit löste. Sodann sank der Wasserstoffgehalt allmählich herab und blieb vom 10. Tage der Gärung an, wenn man von der geringen Steigerung in den 3 letzten Portionen absieht, unverändert, indem er innerhalb der Grenzen von 33–36 Proz. schwankte. Es ist interessant, daß Frankland in einem seiner Versuche über die Mannitgärung unter Einfluß des

No. der Analyse	Zeit der Entnahme der Gasportion	Zeit, in welcher die Gasportion ausgeschieden war, in Stunden	Volumen des aufgefangenen Gases bei 0° u. 760 mm im ccm	Prozentgehalt		Pro Stunde ausgeschiedene Gasmenge in ccm	Pro Stunde ausgeschiedene Wassermenge in ccm	Bemerkungen
				CO ₂	H ₂			
1	17./II. 5 U. nachm.	9	81,597	34,8	65,0	9,1	5,9	
2	17./II. 9 U. abds.	4	77,053	45,6	54,4	19,3	10,5	
3	17./II. 12 U. nachts	3	72,733	49,4	50,6	24,2	12,3	
4	18./II. 4 U. 30' vorm.	4 1/2	100,485	51,6	48,4	22,3	10,8	
5	18./II. 7 U. 10' vorm.	3 2/3	75,249	53,8	46,2	20,4	9,5	
6	18./II. 10 U. vorm.	3 5/6	74,366	56,8	43,2	19,4	8,3	
7	18./II. 1 U. nachm.	3	82,944	57,3	42,7	27,6	11,8	
8	18./II. 9 U. 20' abds.	8 1/3	59,206	56,0	44,0	7,1	3,1	Von 2 U. nachm. b. 9 U. 20' abds. — bei 14—16°.
9	19./II. 12 U. 30' nachm.	15 1/6	78,624	54,8	45,2	5,2	2,3	Vom 18./II. 9 U. 20' abds. bis 19./II. 10 U. vorm. — bei 14—16°.
10	19./II. 4 U. 45' nachm.	4 1/4	83,763	61,2	39,2	19,7	7,7	
11	19./II. 7 U. 45' abds.	3	63,581	62,4	37,6	21,2	7,7	
12	19./II. 11 U. 15' abds.	3 1/2	69,126	60,7	39,3	19,8	7,8	
13	20./II. 12 U. 45' nachm.	13 1/2	79,093	59,2	40,8	5,9	2,4	Vom 19./II. 11 U. 15' abds. bis 20./II. 8 U. vorm. — bei 14—16°.
14	20./II. 5 U. nachm.	4 1/4	84,683	63,5	36,5	19,9	7,3	
15	20./II. 9 U. 10' abds.	4 1/6	79,005	62,7	37,3	19,0	7,1	
16	22./II. 9 U. abds.	48	84,905	54,3	45,7	1,8	0,8	14—16°.
17	25./II. 2 U. nachm.	65	77,587	55,2	44,8	1,2	0,5	14—16°.
18	25./II. 9 U. abds.	7	89,402	71,6	28,4	12,8	3,6	
19	26./II. 2 U. nachm.	17	76,724	67,2	32,8	4,5	1,5	Vom 25./II. 9 U. abds. bis 26./II. 8 U. vorm. — bei 14—16°.
20	26./II. 7 U. 30' abds.	5 1/2	77,330	68,8	31,2	14,0	4,4	
21	27./II. 5 U. nachm.	21 1/3	83,051	65,3	34,7	3,9	1,3	Vom 26./II. 11 U. abds. bis 27./II. 8 U. vorm. — bei 14—16°.
22	27./II. 11 U. 20' abds.	6 1/3	66,523	67,6	32,4	10,5	3,4	
23	28./II. 7 U. vorm.	7 2/3	65,895	67,1	32,9	8,6	2,8	
24	28./II. 3 U. nachm.	8	68,980	66,8	33,2	8,6	2,8	
25	28./II. 10 U. 30' abds.	7 1/2	58,598	66,1	33,9	7,8	2,6	
26	1./III. 10 U. vorm.	11 1/2	83,452	65,4	34,6	7,2	2,5	
27	1./III. 8 U. 20' abds.	10 1/3	79,360	65,8	34,2	8,5	2,6	
28	2./III. 7 U. 45' vorm.	11 1/3	80,933	63,4	36,9	7,0	2,6	
29	2./III. 7 U. 45' abds.	12	75,080	63,8	36,2	6,3	2,3	
30	3./III. 7 U. 35' vorm.	11 5/6	62,511	63,8	36,2	5,2	1,9	
31	3./III. 7 U. 45' abds.	12 1/6	57,259	64,2	35,8	4,7	1,6	
32	4./III. 4 U. nachm.	20 1/4	77,721	63,6	36,4	3,8	1,4	
33	5./III. 4 U. nachm.	24	72,646	63,5	36,5	3,0	1,1	
34	6./III. 10 U. abds.	30	64,326	63,6	36,4	2,1	0,8	
35	8./III. 10 U. abds.	48	71,260	63,6	36,4	1,5	0,54	
36	11./III. 5 U. nachm.	67	70,767	63,4	36,6	1,0	0,39	
37	13./III. 5 U. nachm.	48	77,929	63,9	36,1	1,6	0,58	
38	14./III. 8 U. abds.	27	61,858	64,9	35,1	2,3	0,80	
39	15./III. 10 U. abds.	26	62,702	63,6	36,4	2,4	0,88	
40	16./III. 11 U. abds.	25	62,219	63,6	36,4	2,5	0,90	
41	19./III. 11 U. abds.	72	130,439	61,9	38,1	1,8	0,69	
42	26./III. 3 U. nachm.	160	76,470	59,4	40,6	0,5	0,19	
43	18./IV. 10 U. vorm.	547	24,701	54,4	45,6	0,04	0,02	
44	„	„	8,000	54,4	45,6	„	„	Im Kolben und Rohre zurückgebliebenes Gas.

Pneumococcus Friedländeri das nämliche Verhältnis von Kohlensäure zu Wasserstoff, d. h. ungefähr 2:1, erhalten hat. Zugleich erweist sich dieses Verhältnis als die Umkehrung desjenigen, welches wir bei der Zersetzung des ameisensauren Kalkes durch

unseren Mikroorganismus beobachtet haben (dort war $\text{CO}_2:\text{H}_2 = 1:2$).

In der 7. und 8. Kolumne finden sich die Werte für die Gas- mengen, resp. Wasserstoffmengen angegeben, welche in je einer Stunde während des ganzen Verlaufes der Gärung ausgeschieden wurden. An der Hand dieser Daten könnte man sich eine Vorstellung von der Intensität der Gärung in den einzelnen Phasen derselben machen ¹⁾.

Im ganzen können wir behaupten, daß der Höhepunkt der Gärungsenergie in die Nacht des ersten Tages fällt, d. h. ungefähr 15 Stunden nach Beginn der Gärung eintritt. Weiterhin nimmt die Schnelligkeit der Gärung allmählich ab, was besonders in der zweiten Hälfte der Gärung (von der 22. Gasportion an), wo dieselbe bei konstanter Temperatur verlief, bemerkbar ist. Vom 13. bis zum 16. März machte sich eine geringe Beschleunigung der Gärung bemerkbar, worauf dieselbe vollständig erlosch.

Sofort nach Beendigung des Versuches wurde die ausgegorene Flüssigkeit der mikroskopischen und chemischen Analyse unterworfen. Die aus der Flüssigkeit und aus dem Kreideniederschlag angefertigten Präparate bewiesen völlige Reinheit der Kultur, obwohl der Mikroorganismus seine Fähigkeit, Farbstoffe aufzunehmen, in bedeutendem Maße eingebüßt hatte.

Die Flüssigkeit wurde durch Filtrieren vom Kreideniederschlag getrennt, der Niederschlag ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Sein Gewicht betrug 16,87 g. Zum Versuch waren 20 g Kreide genommen worden; mithin waren während der Gärung 3,13 g Kreide in Lösung gegangen. Die Menge des CaO , die an flüchtige Säuren gebunden war, erwies sich (wie wir weiter sehen werden) als 1,532 g, was 2,74 g Kreide entspricht. Die Differenz von ca. 0,4 g entspricht ungefähr derjenigen Kreidemenge, die in Form von Bikarbonat gelöst worden war.

Der Kreideniederschlag wurde sodann in schwacher Salzsäure gelöst und mit einer Mischung von 2 Teilen Aether und einem Teile Alkohol extrahiert.

Nach Abdestillieren des Alkohols und Aethers blieb im Kolben ein sehr geringer brauner Rückstand zurück, welchen näher zu untersuchen keine Möglichkeit vorlag.

Das Volumen der abfiltrierten Flüssigkeit betrug 460 ccm. Da

1) Leider jedoch hatten wir uns vor Beginn des Versuches, da wir keine so reichliche Gasabsonderung erwarteten, nicht mit genügend großen Rezipienten zum Auffangen desselben versorgt. Infolge dieses Mangels waren wir genötigt, um Verluste an Gas zu vermeiden, im Laufe der ersten Tage den Kolben zur Nacht aus dem Thermostaten herauszustellen und bei Zimmertemperatur (14 bis 16°) stehen zu lassen. Dieses aber übte nicht nur auf die Gesamtmenge des ausgeschiedenen Gases, sondern auch auf den relativen Prozentgehalt seiner Komponenten einen Einfluß aus, da bei der niedrigeren Temperatur und dem verlangsamten Gasstrom größere Mengen Kohlensäure sich in der Flüssigkeit lösten und das Gasgemenge an Wasserstoff reicher wurde. Außerdem waren wir während der Gärungsperiode einige Male genötigt, den Thermostaten wegen Störungen in der Gasleitung auszulöschen und den Kolben bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Alles dieses ist in der Rubrik der Anmerkungen (9. Kolumne) auf der Tabelle vermerkt.

das Mannit in 2-proz. Lösung angewandt worden war, entsprach diesem Volumen 9,2 g Mannit, auf welche Zahl alle späteren Rechnungen zu beziehen sind.

Die Flüssigkeit hatte einen angenehmen, etwas spirituösen Geruch. Die Fehlingsche Probe ergab ein negatives Resultat.

Auch die qualitative Mannitprobe von Gayon und Dubourg¹⁾ wurde angestellt. Zu diesem Behufe wurden 3 ccm der ausgegorenen Flüssigkeit im Laufe von 24 Stunden auf einem Uhrglase langsam zum Trocknen eingedunstet. Auf dem Glase blieben nur wenige kristallinische Bildungen am Rande, sowie eine durchsichtige glasartige Masse am Boden zurück. In Anbetracht der großen Empfindlichkeit dieser Probe, welche die Anwesenheit von Mannit (charakteristische nadelförmige Kristalle mit seidenartigem Glanz) selbst bei Gehalt desselben unter 0,1 Proz. zu erkennen gestattet, dürfen wir annehmen, daß die Mannitzersetzung in unserem Versuche eine vollständige war.

Zur Bestimmung der gelösten Kohlensäure, sowie der Gesamtacidität wurden 100 ccm des Filtrats genommen. Das Gewicht der Kohlensäure, welche beim Kochen dieser Flüssigkeitsmenge entwich, betrug 0,047 g, was 0,206 g in 460 cc entspricht.

Nach Abfiltrieren des ausgefallenen Kreideniederschlages wurde in derselben Portion der Flüssigkeit die Menge des gelösten Kalkes durch Fällung mit Ammoniumoxalat bestimmt. In 100 ccm Flüssigkeit fand sich 0,333 CaO, was 1,532 g in 460 ccm entspricht. Diese Zahl gibt den Gehalt an Säuren in der Flüssigkeit an, sowie auch die Menge der Kohlensäure, die durch die anderen Säuren aus der Kreide verdrängt worden war. Die letztere erwies sich zu 1,204 g. Mithin sind sämtliche Daten zur Berechnung der bei der Zersetzung des Mannits ausgeschiedenen Kohlensäure vorhanden.

Während der Gärung als Gas aufgefangen	3,855 g CO ₂
In der Flüssigkeit gelöst geblieben	0,206 g "
Im ganzen also gebildet	4,061 g "
Durch Zersetzung der Kreide frei geworden	1,204 g "
Folglich durch Zersetzung des Mannits entwickelt	2,857 g "
	entsprechend 1445 ccm.

Das Volumverhältnis der Kohlensäure und des Wasserstoffs, welche durch Zersetzung des Mannits selbst ausgeschieden wurden, wird demnach durch die Zahlen 1445:1261, oder ungefähr 1,15:1 ausgedrückt.

Den systematischen Gang der Analyse zur Bestimmung der in der Flüssigkeit gelösten Gärungsprodukte haben wir bereits in unserer Mitteilung „Ueber die Gärung der Cellulose²⁾“ beschrieben; wir wollen daher, ohne uns bei der Beschreibung der analytischen Methoden aufzuhalten, zum Bericht über die Analysenresultate übergehen.

Der erhaltene Alkohol siedete bei 78° und war nichts anderes als gewöhnlicher Aethylalkohol.

Die Zusammensetzung der flüchtigen Säuren wurde nach dem

1) Gayon et Dubourg, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VIII. p. 108.

2) Omelianski, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 323 u. f.

Verfahren von Duclaux¹⁾ ermittelt und ergab das Verhältnis von 1 Molekül Ameisensäure zu 4 Molekülen Essigsäure.

Von den nicht flüchtigen Säuren fand sich Milchsäure.

Die nähere Untersuchung des bei der Analyse erhaltenen Zinksalzes der Milchsäure ergab folgende Resultate:

a) Löslichkeit. 1 g des Salzes löst sich in 17,5 ccm Wasser.
b) Feuchtigkeit. Abgewogene Menge = 0,3865 g. Gewichtsverlust beim Trocknen (3 Stunden bei 125°) = 0,0508 g. Wassergehalt im lufttrockenen Salze = 13,1 Proz.

c) Zinkbestimmung. Gewicht des trockenen Salzes = 0,3104 g. Gewicht des ZnO = 0,1030 g. Gewicht des Zn = 0,0827 g. Zinkgehalt = 26,6 Proz.

d) Optische Untersuchung. Eine Lösung von 1 g des lufttrockenen Salzes in 17,5 g Wasser (d. h. ca. 5,5-proz. Lösung) dreht die Polarisationssebene im 2-Dezimeterrohre um 2° nach der Skala von Schmidt und Hänsch, oder um 0,688° des Kreises nach rechts.

$$[\alpha] = \frac{100 \cdot 0,688}{2,5,5} = + 6,3$$

Sämtliche hier angeführten Daten sprechen dafür, daß bei der Gärung linksdrehende Milchsäure erhalten worden war.

Fassen wir die in diesem Versuche erhaltenen Daten zusammen, so ergibt sich folgendes:

I. Zum Versuch genommen 9,2 g Mannit.

II. Gärungsprodukte.

Wasserstoff	0,113 g	oder 1,2 Proz.
Kohlensäure	2,857 g	„ 30,4 „
Aethylalkohol	1,731 g	„ 18,5 „
Ameisensäure	0,069 g	„ 0,7 „
Essigsäure	0,357 g	„ 3,8 „
Milchsäure	4,257 g	„ 45,4 „
	9,384	100,0

Vergegenwärtigt man sich die Kompliziertheit der Analyse, sowie die Bestimmung mancher Zahlen durch Berechnung auf indirektem Wege, so muß man anerkennen, daß der erhaltene Ueberschuß (0,184 g) die Grenzen der Versuchsfehler nicht überschreitet.

Wir sehen demnach, daß in Bezug auf das Mannitgärung das *Bacterium formicicum* als Milchsäureferment bezeichnet werden kann. Dem Charakter der Zersetzung nach steht dasselbe dem *Bacillus* sehr nahe, den Pottévin isoliert hat. Der wesentliche Unterschied zwischen ihnen besteht darin, daß in unserem Falle linksdrehende anstatt der rechtsdrehenden Milchsäure erhalten wurde.

Es muß übrigens bemerkt werden, daß die Bildung einer optisch aktiven isomeren Form der Milchsäure in unserem Falle, wie bei Pottévin, kein konstantes Merkmal bildete, welches für den *Bacillus* charakteristisch wäre. Als wir Mannit in 0,1-proz. Peptonlösung gären ließen, erhielten wir statt der linksdrehenden

1) Duclaux, *Traité de Microbiologie*. T. III. p. 385.

inaktive Milchsäure und dazu noch in relativ geringer Quantität; dafür aber hatte sich in der Flüssigkeit viel Bernsteinsäure gebildet.

Man sieht, einen wie großen Einfluß auf den Verlauf der Gärung die Bedingungen, unter denen dieselbe vor sich geht, ausüben. Unter veränderten Bedingungen werden nicht nur veränderte Mengen der Gärungsprodukte, sondern oft auch, wie in unserem Falle, vollkommen neue Substanzen erhalten.

Indem wir nun zur Gärung des Dulcits übergehen, begegnen wir hier einer äußersten Dürftigkeit der einschlägigen Literaturangaben. Soviel uns bekannt ist, existieren über diese Frage bloß vereinzelte Angaben, während einigermaßen ausführliche Untersuchungen bisher überhaupt nicht unternommen worden sind. Das Eine steht fest, daß die Bakterien sich den beiden Isomeren gegenüber, Mannit und Dulcit, bei weitem nicht in gleicher Weise verhalten. So können zufolge der Daten von Frankland weder der *Bac. ethaceticus* noch der *Pneum. Friedländeri* Dulcit zum Gären bringen; dagegen ruft der *Bacillus Pottevins* im Dulcit ebenso wie im Mannit Gärung hervor, unter Bildung derselben rechtsdrehenden Milchsäure, nur in bedeutend geringerer Quantität.

Zu unserem Versuche nahmen wir einen langhalsigen Kolben von ca. 490 ccm Inhalt, welcher genau in derselben Weise beschickt wurde, wie anlässlich des Mannitversuches beschrieben worden ist. Auch die Nährsalzlösung war die gleiche, nur wurde das Dulcit in Menge von 1 Proz. zugesetzt und bloß 5 g Kreide genommen.

Am 22. April 1902 wurde der Kolben mit reiner Agarkultur des *Bact. formicicum* geimpft. Die Gärung begann nach 24 Stunden. Die gesamten während der Gärung ausgeschiedenen Gase wurden aufgefangen und analysiert. Die erhaltenen Werte sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt (siehe p. 325).

Während der ganzen Gärungsdauer wurde 1426,200 ccm Gas aufgefangen, und zwar:

Kohlensäure	887,077 ccm	oder	1,754 g	und
Wasserstoff	539,123	„	„	0,048 „

Die Zusammensetzung der ausgeschiedenen Gase veränderte sich in derselben Weise, wie bei der Mannitgärung. Ebenso allmählich verminderte sich der Wasserstoff von der ersten Probe an, wo derselbe ca. 65 Proz. betrug, bis er auf annähernd 33 Proz. herabgesunken war, auf welcher Höhe er sich ziemlich lange hielt. Selbst die kleine Erhöhung des Wasserstoffgehalts in den letzten Portionen (bis zu 45—46 Proz.) ist hier bemerkbar. Mit einem Worte, es wiederholt sich buchstäblich dasselbe, was wir bei der Mannitgärung beobachtet haben.

Auch die Intensität der Gärung veränderte sich in derselben Weise, wie beim Mannit, indem sie am ersten Tage ihr Maximum erreichte, um dann allmählich bis zum Schlusse herabzusinken.

Die Analyse der nach der Gärung zurückgebliebenen Flüssig-

No. der Analyse	Zeit der Entnahme der Gasportion	Zeit, in welcher die Gasportion ausgeschieden war, in Stunden	Volumen des aufgefangenen Gases bei 0° u. 760 mm Druck in ccm	Prozentgehalt		Pro Stunde ausgeschiedene Gasmenge in ccm	Pro Stunde ausgeschiedene Wassermenge in ccm	Anmerkungen
				CO ₂	H ₂			
1	24./IV. 8 U. abds.	25	116,646	32,4	67,8	4,6	3,1	11 Stunden lang bei gewöhnlicher Temperatur
2	26./IV. 8 U. abds.	48	106,000	50,4	49,6	2,2	1,1	
3	30./IV. 8 U. abds.	96	118,008	61,7	38,3	1,2	0,47	
4	3./V. 11 U. vorm.	63	135,977	70,1	29,9	2,1	0,64	
5	6./V. 9 U. vorm.	70	133,003	70,0	30,0	1,9	0,57	
6	10./V. 7 U. abds.	106	134,853	66,8	33,2	1,3	0,42	10 Stunden lang bei gewöhnlicher Temperatur
7	15./V. 5 U. abds.	118	123,033	66,7	33,3	1,04	0,34	
8	23./V. 11 U. vorm.	186	144,483	67,8	32,2	0,77	0,25	
9	3./VI. 11 U. vorm.	264	132,544	67,9	32,1	0,50	0,16	
10	21./VI. 6 U. abds.	439	146,546	65,2	34,8	0,33	0,11	
11	30./VII. 10 U. vorm.	929	120,609	59,1	40,9	0,13	0,033	21 Stunden lang bei gewöhnlicher Temperatur
12	17./IX. 10 U. vorm.	1176	8,498	53,1	46,9	0,007	0,003	
—	—	—	6,000	53,1	46,9	—	—	

keit wurde ebenfalls in der nämlichen Weise ausgeführt, wie es gelegentlich der Mannitgärung beschrieben worden ist. Daher können wir, ohne auf die Einzelheiten einzugehen, uns auf die Zusammenfassung der erhaltenen Resultate beschränken.

Das Gesamtvolumen der filtrierten Flüssigkeit betrug 485 ccm, was 4,85 g Dulcit entspricht.

Die Menge des CaO, welches an Säuren gebunden sich in der Lösung befand, war 0,647 g.

Die Berechnung der Kohlensäure erfolgte auf Grund folgender Daten:

Bei der Gärung als Gas aufgefangen	1,754 g
in der Flüssigkeit gelöst geblieben	0,232 „
folglich im ganzen gebildet	1,986 „
durch Zersetzung der Kreide entstanden	0,508 „
demnach durch Zersetzung des Dulcits entwickelt	1,478 „
entsprechend	747,5 ccm

Das Volumenverhältnis von Kohlensäure und Wasserstoff, welche bei der Zersetzung des Dulcits zur Ausscheidung gelangt waren, wird also ausgedrückt durch die Zahlen 747,5:539,1 oder ungefähr 1,38:1. Dieses Verhältnis ist etwas höher als dasjenige, welches bei der Mannitgärung beobachtet wurde (1,15:1).

Von Alkohol (Aethylalkohol?) wurden bloß Spuren gefunden.

Die flüchtigen Säuren bestanden aus Essigsäure und einer geringen Beimengung von Ameisensäure, im Verhältnis ungefähr von 15:1.

Von nicht flüchtigen Säuren wurden linksdrehende Milchsäure in einer Menge von 1,251 g und Bernsteinsäure konstatiert. Die

letztere befand sich als Kalksalz im Niederschlage. Durch eine unglückliche Zufälligkeit ist die quantitative Bestimmung derselben mißlungen. Quantitativ wurde sie durch die Pyrrholreaktion¹⁾ nachgewiesen.

Die Berechnung der zurückgebliebenen Kreide konnte in diesem Versuche nicht mit Genauigkeit ausgeführt werden, da 1) ein Teil des Quecksilbers in den Kolben geraten war, und 2) der Kreide bernsteinsaures Calcium beigemischt war.

Fassen wir die erhaltenen Daten zusammen, so ergibt sich folgendes:

I. Zum Versuche genommen 4,85 g Dulcit.

II. Gärungsprodukte.

Wasserstoff	0,048 g	oder	1,0 Proz.
Kohlensäure	1,478 „	„	30,5 „
Essigsäure	0,541 „	„	11,2 „
Ameisensäure	0,028 „	„	0,5 „
Milchsäure	1,251 „	„	25,8 „
[Bernsteinsäure	1,504 „	„	31,0 „]
<hr/>			
	4,85 g	oder	100,0 Proz.

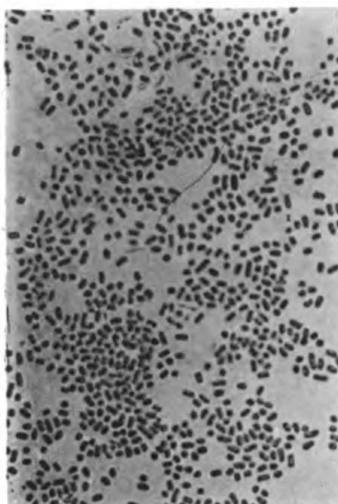
Die Menge der Bernsteinsäure ist nach der Differenz berechnet.

Wie aus den angeführten Daten ersichtlich, besteht ein wesentlicher Unterschied zwischen der Dulcitzgärung und der Mannitgärung unter gleichen Umständen in unserem Falle darin, daß bei der Dulcitzersetzung beträchtliche Mengen von Bernsteinsäure auftreten.

Es wurden auch noch Gärungsversuche mit Milchzucker und Glukose angestellt. In beiden Fällen traten dieselben Gärungsprodukte auf, wie bei der Gärung der höheren Alkohole. Was die Milchsäure betrifft, so wurde bei der Gärung der Glukose linksdrehende, bei der Gärung des Milchzuckers dagegen optisch inaktive Milchsäure erhalten. Außerdem entwickelten sich in letzterem Falle bedeutende Mengen von Bernsteinsäure.

Die Aufgabe, die wir uns gestellt haben, eine Mikrobenart zu finden, welche den Zerfall der Ameisensäure bei behindertem Luftzutritt bewerkstelligen könnte, ist es uns somit zu lösen gelungen. Wir haben eine wohlcharakterisierte und weitverbreitete Species gefunden, die unter bestimmten Bedingungen diesen Prozeß mit großer Energie zu vollbringen im stande ist. Doch sind wir uns wohl bewußt, daß manche hierauf bezügliche Frage noch im Schatten geblieben ist. Das Verhalten der Species zur Ameisensäure bedarf noch einiger ergänzender Studien; im Zusammenhange damit ist auch das Verhalten von anderen Mikrobenarten zu derselben Substanz zu untersuchen. Nur nach diesen ausgedehnten Studien werden sich einige allgemeine Schlußfolgerungen über den Nähr- und Gärwert der Ameisensäure ziehen lassen. Wir behalten uns vor, diese Untersuchungen weiter fortzusetzen und gedenken in einer zweiten Mitteilung Bericht über die erhaltenen Daten zu erstatten.

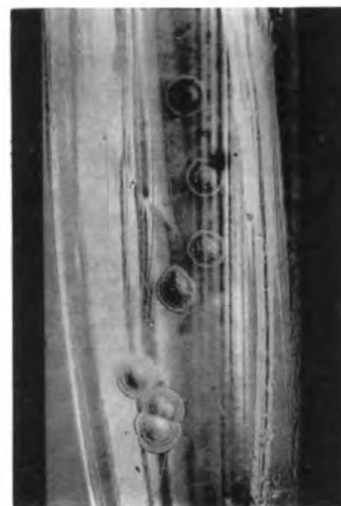
1) Neuberg, C., Ueber den Nachweis der Bernsteinsäure. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1901. p. 575.)



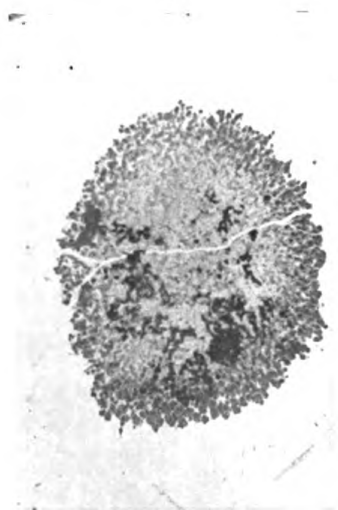
1.



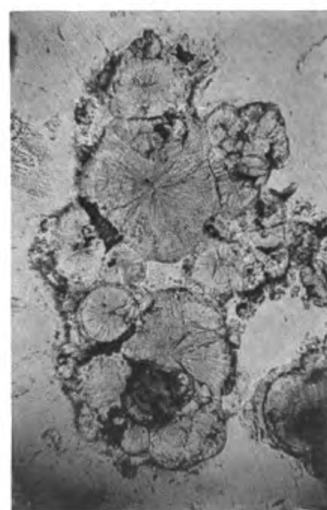
2.



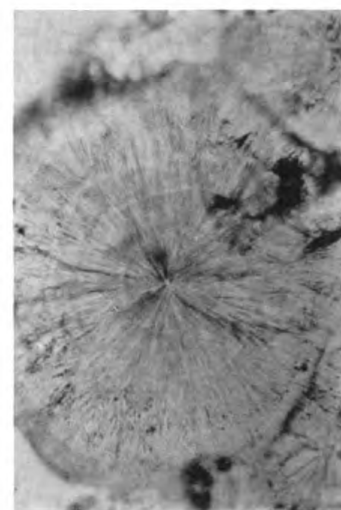
3.



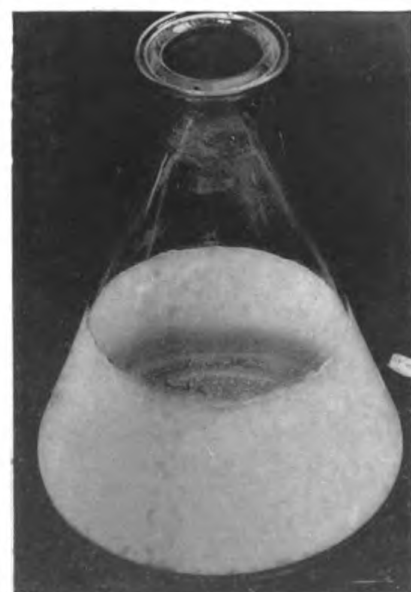
4.



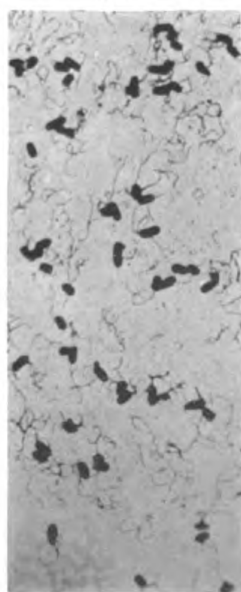
5.



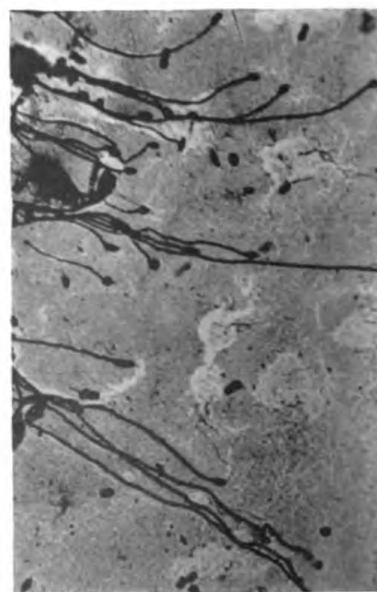
6.



7.



8.



9.

Tafelerklärung.

- 1) Eintägige Kultur auf Agar. Färbung: gew. Fuchsin und Karbolfuchsin. Vergrößerung 1:1000.
- 2) Aeltere Kolonien auf Agar. Vergrößerung 1:1,5.
- 3) Aeltere Kolonien auf Agar mit Kalkformiat. Vergrößerung 1:1,5.
- 4) Aeltere Kolonien auf Agar mit Kalkformiat. Das Schüppchen ist eine vom Agar abgehobene Kolonie. Vergrößerung 1:10.
- 5) Kalksphärolitten aus einer flüssigen Kultur von *Bact. formicicum*. Vergrößerung 1:40.
- 6) Kalksphärolitten aus einer flüssigen Kultur von *Bact. formicicum*. Vergrößerung 1:120.
- 7) Kolben, worin die Gärung vom Kalkformiat stattfand. Verkleinert 3:1.
- 8) und 9) Eintägige Kultur auf Agar. Färbung nach Zettnow. Auf 8 sieht man die Geißeln, auf 9 Schleimstränge, welche die auseinanderschwärmenden Bakterien nach sich ziehen.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen.

Von Dr. Ed. v. Freudenreich.

In Bd. X. No. 16/17 dieser Zeitschrift berichtet Dr. A. Rodella über das Vorkommen streng anaërober Bakterienarten in Hartkäsen, und kommt auf Grund seiner Versuche zu dem Schlusse, daß dieselben regelmäßig in diesen Käsen zu finden seien und daher wohl auch an der Reifung dieser Käseart beteiligt seien. Letzteres spricht freilich Verf. nicht bestimmt aus, da er sich aber in einen gewissen Gegensatz stellt zu denjenigen Forschern, die nur selten solche anaërobe Bakterien fanden und daher ihre Bedeutung für den Reifungsprozeß in Abrede stellten, so scheint mir dieses seine Ansicht zu sein.

So interessant auch die von Dr. Rodella erhaltenen Resultate sind, so glaube ich doch nicht, daß die von ihm gefundenen anaëroben Bakterien irgend etwas mit der Reifung des Käses zu tun haben. Bei einer Gärung, wie es der Reifungsprozeß des Käses ist, darf man wohl erwarten, daß die Gärungserreger nicht vereinzelt vorkommen, sondern in genügender Zahl, um für die Gärungserscheinungen verantwortlich gemacht werden zu dürfen. Nun aber gelingt es Dr. Rodella nur dadurch, strenge Anaëroben im Käse nachzuweisen, daß er zunächst ein sogenanntes Anreicherungsverfahren verwendet.

So z. B. wurden 0,2–0,5 g Käse in anaëroben Bouillon- und Zuckerbouillonröhrchen zunächst 3–4 Tage lang bei 37° belassen, darauf 10 Minuten lang auf 80° erwärmt, um die weniger widerstandsfähigen Milchsäurefermente abzutöten und dann 30, 20, 15 und 5 Tropfen in Agarröhrchen in hoher Schicht eingepflegt, oder es wurde ca. 1 g Käse in noch heiße sterile Milch in Flaschen eingesät. Auf diese Weise gelangen die Anaëroben leicht zur Entwicklung, auch wenn ursprünglich vielleicht nur ein paar Sporen derselben vorhanden waren. Legt man dann Schüttelkulturen in hoher Agarschicht an, so findet man sie sozusagen in Reinkultur.

Ganz die gleichen Erfahrungen wie Dr. Rodella habe ich früher gemacht, und bereits in den Jahren 1895 und 1896¹⁾ auf das Vorkommen von Anaëroben im Käse aufmerksam gemacht. Außer den Buttersäurebacillen fand ich damals auch eine Bakterienart, die wie Weigmanns *Paraplectrum foetidum* sich durch Bildung eines an Limburger erinnernden Geruches auszeichnete.

Solche Anreicherungsverfahren sind indessen nur da am Platze, wo es sich darum handelt, aus einem Bakteriengemische einzelne bestimmte, vielleicht nur in spärlicher Anzahl vorhandene, Bakterienarten herauszuzüchten. Dieses ist aber, wie bereits erwähnt, bei einem Gärungsvorgange nicht der Fall.

Trotzdem habe ich, um meine früheren Versuche einer nochmaligen Kontrolle zu unterziehen, eine ähnliche Versuchsreihe wie Dr. Rodella angelegt, jedoch mit dem Unterschiede, daß ich die Käseemulsionen auch ohne vorherige Anreicherung auf das Vorhandensein von Anaëroben prüfte. Zu diesen Versuchen dienten 15 Emmen-thalerkäse verschiedener Provenienz. Zunächst wurden nun von jedem Käse ca. 0,5 g in 5 ccm sterilem Wasser verrieben und 5 Minuten lang auf 80° erwärmt. Dann wurden je 2 und 10 Tropfen dieser erwärmten Emulsion in flüssiges Schottenagar in hoher Schicht (Burrische Röhren) eingepflegt und letztere bei 35° bebrütet. Die erwärmte Emulsion wurde ebenfalls bei 35° bebrütet und nach 3 Tagen neue anaërobe Kulturen mit 1 und 5 Tropfen in gleicher Weise angelegt. Ferner wurden gleichzeitig andere Emulsionen hergestellt, die ohne vorheriges Erwärmen zunächst 3 Tage lang bei 35° aufbewahrt und erst dann 5 Minuten lang auf 80° erwärmt und zu anaëroben Kulturen verwendet wurden (1 und 5 Tropfen per Glas). Meine Emulsionen habe ich in sterilem Wasser und nicht in Zuckerbouillon wie Dr. Rodella hergestellt, weil der Milchzucker bekanntlich schon in den allerersten Tagen nach der Herstellung der Käse durch die Milchsäurefermente total vergoren wird und die Anaëroben, wenn sie an dem späteren Reifungsprozeß teilnehmen, sich ja in einem zuckerlosen Nährmedium befinden; eine Emulsion mit Wasser hergestellt, schien mir daher eher die Bedingungen, wie sie in Wirklichkeit vorliegen, wiederzugeben. Es ist aber wahrscheinlich, daß die zahlreicheren positiven Resultate Dr. Rodellas dem Umstande zuzuschreiben sind, daß die Anreicherung in einem zuckerhaltigen Medium leichter gelingt. Auch hat Rodella seine Emulsionen ganz streng anaërob gehalten, was begünstigend auf den Anreicherungsprozeß wirken mußte; ich habe es indessen nicht getan, weil ich aus früheren Erfahrungen wußte, daß auch in den nicht streng anaërob gehaltenen Emulsionen die Anaëroben sich ganz gut entwickeln können, besonders wenn sich, was meist der Fall ist, auch *Tyrothrix*-Sporen darin befinden; diese entwickeln sich nämlich rasch und machen, wie dieses für die Heubacillen nachgewiesen worden ist, die Emulsion zu einem günstigen Nährmedium für die Anaëroben.

1) Diese Zeitschrift. Bd. I. p. 856 u. Bd. II. p. 317.

Das Resultat war nun folgendes: In keiner der mit 2 und 10 Tropfen der frischen, auf 80° erwärmten Käseemulsionen geimpften Röhren entwickelten sich anaërobe Bakterien. Die mit 10 Tropfen geimpften Röhren der Käse 12 und 13 gaben zwar je 2 Kolonien, die abgeimpft wurden; es zeigte sich aber, daß es fakultativ anaërobe *Tyrothrix*-Bacillen waren; aërob wuchsen sie unter Bildung eines dicken Häutchens.

Die gleichen Käseemulsionen, die zu diesen Versuchen gedient hatten, wurden dann, wie gesagt, 3 Tage lang bei 35° bebrütet und darauf wiederum in Burrische Röhren eingeimpft. Nur 2 dieser Emulsionen (Käse 14 und 15) gaben stark gasbildende anaërobe Bacillen. Bei 14 Käsen war außerdem die Oberfläche der Röhren mit einer *Tyrothrix*-Haut bedeckt.

Was die Käseemulsionen anlangt, die ohne vorherige Erwärmung zunächst für 3 Tage in den Brütöfen getan, und erst dann erwärmt und zu Platten ausgegossen wurden, so gab nur ein Käse, diesmal Käse No. 2, gasbildende Anaëroben. Dreimal blieben die Röhren steril (Käse 6, 13 und 14), die Nummern 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 und 15 gaben *Tyrothrix*-Bacillen.

Diese Versuche zeigen, daß streng anaërobe Bacillen im Käse jedenfalls nicht zahlreich sind, wenn es auch gelingen dürfte, bei Verwendung größerer Mengen zu den Aussaaten sie in jedem Käse nachzuweisen. Bei Einsaat von 10 Tropfen der in 5 ccm sterilem Wasser hergestellten, auf 80° 5 Minuten lang erwärmten Emulsion von ca. 0,5 g Käse — was bei den von mir gebrauchten Pipetten 1,20 g gleichkommt — entwickelten sich Anaëroben in keinem Falle, und selbst nach einem Anreicherungsverfahren fanden sie sich nicht in jeder Emulsion; somit kann man sagen, daß sie in 0,5 g Käse nicht regelmäßig vorkommen. In der gleichen Menge Käse findet man dagegen Millionen von Milchsäurefermenten, es ist daher kaum anzunehmen, daß eine so geringe Zahl anaërober Bakterien auf den Reifungsprozeß irgend einen entscheidenden Einfluß haben könnte. Hätten sie mit der Reifung zu tun, so müßten sie übrigens in jedem Käse anzutreffen sein, dieses ist aber auch in den Versuchen von Rodella nicht der Fall gewesen. Ferner möchte ich darauf aufmerksam machen, daß die meisten der von diesem Forscher gefundenen Anaëroben Buttersäurebildner sind; diese sind nun meist sehr starke Gasbildner; falls sie sich in einem Käse in großer Menge entwickeln sollten, so würden sie wahrscheinlich auch Blähung hervorbringen. Nur einmal habe ich in einem Käse anaërobe Bakterien, zur Klasse der Buttersäurebildner gehörend, in großer Menge angetroffen; ein paar Tropfen der erwärmten Emulsion gab nämlich unzählbare Kolonien derselben in den anaëroben Schottenagar-Schüttelkulturen. Merkwürdigerweise war dieses ein Käse, dessen Genuß bei ca. 50 Personen heftiges Erbrechen und Diarrhöe hervorgerufen hatte. Da andere Krankheitserreger, wie etwa *Bac. enteritidis*, nicht gefunden wurden, auch metallische oder organische Gifte nicht vorhanden waren, so ist nicht ausgeschlossen, daß diese Anaëroben, resp. ihre Produkte, Ursache der Erkrankung gewesen seien. Bei

Katzen und Hunden konnte ich freilich durch Verfütterung von Milchkulturen dieses *Bacillus* keine Krankheitssymptome hervorrufen, aber bekanntlich vertragen diese Tiere manches, was dem menschlichen Magen nicht zuträglich ist.

Wollte man an einer Beteiligung streng anaërober Bakterien am Reifungsprozeß festhalten, so wäre eher an solche zu denken, die durch an Käse erinnernde Gerüche sich auszeichnen, wie Weigmanns *Paraplectrum foetidum* oder mein *Clostridium foetidum lactis*. Aber auch sie sind relativ selten im Käse; so hat Rodella in seinen Versuchen den vielleicht damit verwandten *Bac. putrificus* Bienstock nur dreimal gefunden. Oder man müßte dann annehmen, daß ganz besondere Methoden noch zu finden seien, um sie zu kultivieren, was aber kaum der Fall sein dürfte, wenn sie im Käse so leicht wüchsen. Bis auf weiteres muß ich daher es für viel wahrscheinlicher halten, daß sowohl diese streng anaëroben wie auch die *Tyrothrix*-Bacillen von keiner Bedeutung für den Reifungsprozeß des Käses und nur als zufällige Bewohner desselben zu betrachten sind.

Nachdruck verboten.

Die Ascusform des *Aspergillus fumigatus*.

[Aus dem Botanischen Laboratorium der Universität zu Utrecht.]

Von Dr. med. G. Grijns.

Mit 6 Fig.

Im Laufe des vorigen Kursus legte ich im Laboratorium des Herrn Prof. Went behufs Determinierübungen eine Reihe von Reinkulturen von *Mucorineae* und *Fungi imperfecti* an, unter denen sich einige von *Aspergillus fumigatus* befanden. Eine dieser zeigte nach etwa 3 Monaten Ascusbildung¹⁾.

Die Diagnose der Species erhellt aus folgenden Daten:

Konidienrasen anfangs schön tiefgrün, der Farbe nach nicht viel von *Aspergillus glaucus* verschieden, später mehr schmutzigrün, staubig; Konidienträger dem unbewaffneten Auge unkenntlich. Wachstum unbeschränkt. Entschieden thermophil.

Konidienträger kurz, hyalin, nicht segmentiert, oben allmählich in die keulenförmige Blase übergehend.

Die einfachen schlanken Sterigmen stehen nur dem Blasen-scheitel auf und strahlen nicht radiär aus, sondern gehen mehr parallel zur Hauptachse ab. Sie haben grünliche Farbe und tragen an ihren Enden die kleinen Konidien, welche glatt, rund und schwach gelbgrün gefärbt sind.

In gut entwickelten Kulturen bilden die Konidienmassen cylindrische oder mehr oder weniger wirre Pinsel, die aber außerordentlich leicht zerfallen, und deshalb in eingebetteten Präparaten nie zur Beobachtung gelangen (Fig. 1). In Wasser oder sonstigen Flüssig-

1) Ich benützte Konings Nährboden; i. e. Malzdekot 1:100 mit 2 Proz. Saccharose und 1%, Proz. Agaragar.

keiten sieht man nur ein oder zwei Konidien im Zusammenhang mit den Sterigmen (Fig. 2).

Die Ascusform dieser Species ist noch nicht beschrieben. Die Angaben von Behrens¹⁾, der die Fruchtkörper als sehr *A. glaucus*-ähnliche, kugelige, gelbe, 73–80 μ messende Körper mit acht-sporigen Asci, und Siebenmanns, der sie als sterile kleine, harte Sklerotien von 17–20 μ beschreibt, werden wohl mit Recht von Wehmer²⁾ in Zweifel gezogen.

Fig. 1. $\frac{360}{1}$.Fig. 2. $\frac{360}{1}$.

Die Schlauchfruchtkörper erscheinen als kleine, etwas unregelmäßige, kugelige, haselnußfarbige Gebilde, die dem Nährboden aufliegen. Sie stehen zu mehreren in regellosen Gruppen zusammen.

Nachdem sich einmal in einer Kultur die Perithezien gezeigt hatten, traten sie auch in einer ganzen Reihe von aus dieser stammenden Generationen wieder auf.

Bei geringer Vergrößerung ergibt sich, daß die Außenfläche aus kleinen, stark lichtbrechenden, grünlichen Kugeln besteht, durch welche ein dunkler, rötlicher Körper hindurchschimmert, welcher sich unter dem Mikroskop ausschälen läßt. Fig. 3 gibt eine Aufnahme von einem teilweise ausgeschälten Fruchtkörper.

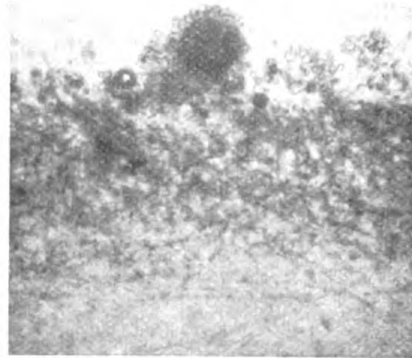
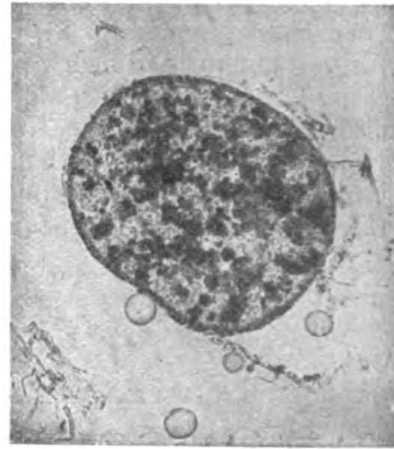
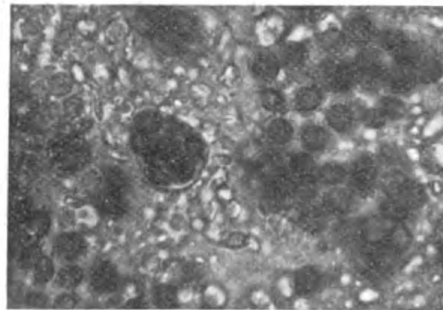
Die Hülle ist ein Hyphengeflecht, dessen kurze Fadenzellen zu kugeligen, dickwandigen Zellen umgewandelt sind. Man trifft solche dickwandige Zellen auch ohne Zusammenhang mit den Fruchtkörpern an, aber nur vereinzelt.

Der dunkelrote, undurchsichtige Körper hat unregelmäßig kugelige oder eiförmige Gestalt und eine sehr zerreißliche Wand, welche aus zwei (stellenweise vielleicht aus mehreren) Schichten von platten, prismatischen Zellen besteht, welche ein dunkelrotes Pigment enthalten.

Innerhalb dieser Wand (Fig. 4) trifft man einen farblosen Fadenfilz, zwischen welchem die ebenfalls farblosen, hyalinen, dünnwandigen, eiförmigen Asci liegen.

1) Behrens, J., Ueber bemerkenswertes Vorkommen und Perithezien von *A. fumigatus*. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XI. Abt. I. 1892. No. 11.)

2) Wehmer, C., Die Pilzgattung *Aspergillus*. Genf (Eggimann) 1901.

Fig. 3. $\frac{35}{1}$.Fig. 4. $\frac{125}{1}$.Fig. 5. $\frac{750}{1}$.Fig. 6. $\frac{9700}{1}$.

Die Asci (Fig. 5) enthalten je 8 Sporen. Diese sind rundlich linsenförmige, stark rot gefärbte, derbwandige Gebilde, die um ihren Aequator einen hellen, farblosen oder blaßgelben Saum haben, welcher radiäre Streifung zeigt (Fig. 6). Von der Seite gesehen, sind die Sporen elliptisch, der Saum geht als ein Band über die Spore hinweg, und ragt an beiden Enden etwas heraus. Der rote Farbstoff, welcher erst kurz vor der Reife auftritt, geht durch Versetzen mit ein wenig Alkali in tiefblau über; er läßt sich mittelst Alkohol oder Xylol nicht ausziehen, löst sich aber in 10-proz. Natronlauge.

Dimensionen in mikra.

Myceliumfaden	3—4	dick
Konidienträger	150—280	lang, 3—6 dick
Köpfchen	60—90	„ 36—50 „
Blase	18—22	„ 14—16 „
Sterigmen	9—18	„
Konidien	2—3	„
Perithecium mit Hülle	250—350	
Perithecium ohne Hülle	180—250	
Dicke der Peritheciumwand	3—5	
Asci	9 × 14	
Askosporen	4 × 4,5	
Dickwandige Kugelzellen	20—24	
Wand derselben	6—10	

Eine Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale* in Bulgarien.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Konstantin Malkoff**, Leiter der Versuchsstation für Pflanzenschutz und Pflanzenbau in Sadovo bei Philippopol, Bulgarien.

Mit 4 Fig.

In Südbulgarien (Rumelien) wird in den Kreisen: Harmanlie, Haskovo und Trnovo-Seimen, welche an die Türkei grenzen, von den Bauern zwischen anderen Kulturpflanzen auch *Sesamum orientale* gebaut. Die Samen dieser Pflanze finden großen Absatz in dem Lande, weil sie zur Bereitung eines Oeles dienen, welches sehr viel konsumiert wird. Die *Sesamum*-Kultur ist sehr rentabel, aber seit einigen Jahren geht sie zurück, weil die Pflanze in nassen Jahren sehr von Krankheiten und in trockenen von der Dürre zu leiden hat.

Die Versuchsstation in Sadovo, welche am 1. September 1902 gegründet ist, hat sich die Aufgabe gestellt, dem Pflanzenschutz und dem Pflanzenbaue zu dienen, und hat in diesem Jahre verschiedene Versuche auch mit der Sesamkultur vorgenommen. Sie wollte untersuchen, welches die besten Sorten von *Sesamum* sind, und ob es nicht möglich wäre, die *Sesamum*-Kulturen auf den Reisfeldern nach Reis zu verbreiten, um von Zeit zu Zeit, wenn nötig, sie zu bewässern.

Es wurden auf dem Versuchsfelde der Station zwei solche Versuche mit *Sesamum* vorgenommen, und zwar mit und ohne Bewässerung und mit je drei *Sesamum*-Sorten (einer einheimischen und zwei asiatischen). Das *Sesamum* war am 18. Juni bestellt, und da es Regen gab, ging es sehr schnell auf. Die eine Parzelle wurde zweimal bewässert und die andere blieb ohne Bewässerung. Seit dieser Zeit hat es bis vor einigen Tagen nicht mehr geregnet, so daß die Pflanzen auf den nicht bewässerten Parzellen bloß auf die Feuchtigkeit angewiesen waren, welche von den Winter- und Frühjahrsregen übrig geblieben war, sowie von dem Regen, der bei dem Aufgehen der Samen gefallen war.

Das *Sesamum* stand bei den beiden Versuchen ganz gut, nur mit dem Unterschiede, daß das bewässerte schneller wuchs und etwa 10 Tage früher blühte, als das andere.

Am 3. August bemerkte ich, daß bei dem bewässerten *Sesamum* manche Blätter dunkelbraune Flecken zeigten und bald vertrockneten. Ich machte gleich Schnittpräparate, um zu untersuchen, von welchem Pilz die Blätter zerstört waren, da sie äußerlich wie durch Pilze erkrankt aussahen. In dem Präparate waren keine Pilzsporen oder Pilzmycelien nachzuweisen, dagegen fanden sich überall und massenhaft Bakterien, welche als die Ursache der Krankheit zu betrachten waren. Die Zellen des untersuchten Blattgewebes waren mit Bakterien angefüllt.

Nach 2—3 Tagen war die Krankheit schon sehr verbreitet. Ich durchmusterte gleich einige Pflanzen, welche kranke Blätter zeigten,

und fand, daß auch die Stengel erkrankt waren. Die befallenen Stengel sehen dunkelbraun bis schwarz aus, sind verdickt und aus den kranken Stellen fließt eine dicke schleimige Flüssigkeit aus, welche bald an dem Stengel vertrocknet, sie ist anfänglich grauweiß, wird aber bald dunkelbraun und kommt aus dem kranken Stengel, nachdem die Epidermis zerrissen ist. Nach wenigen Tagen werden die befallenen Stengel ganz schwarz, biegen sich um und vertrocknen endlich.

Die Krankheit befällt bald die ganze Pflanze, bald aber bloß die einzelnen Triebe. Sie schreitet sehr schnell fort; in 3—4 Tagen werden alle Blätter befallen und der Stengel verfault.

Die Krankheit ist demnach sehr gefährlich für die *Sesamum*-Kultur. Sie trat zuerst auf dem einheimischen *Sesamum* auf, weil dieses sich früher entwickelt hat, befiel später aber auch die beiden anderen Sorten. Es ist noch zu bemerken, daß sich die Krankheit erst dann zeigt, wenn die Pflanzen ganz gut ausgebildet sind und schon einige Zeit blühen. Auf ganz jungen Pflanzen fand sie sich nicht.

Auf dem *Sesamum*, welches nicht bewässert war, trat die Krankheit erst im September auf, nachdem ein kleiner Regen gefallen war.

Um zu sehen, ob wirklich in dem Saft der kranken Pflanzen das Virus sich befindet, nahm ich mit demselben Infektionsversuche vor. Die Versuche ergaben, daß in 4—7 Tagen auf bisher ganz gesunden Blättern und Blattstielen die Krankheit mit allen ihren charakteristischen Merkmalen hervorgerufen war. Die Versuche fanden statt mit und ohne Wunden und glückten in beiden Fällen. Gleichzeitig versuchte ich das trocken gewachsene *Sesamum* zu impfen, wobei ich folgende Resultate erhielt:

Die Impfung fand am 20. August statt; geimpft waren:

Pflanzenteile:	die Krankheit zeigt sich:
1) Stengel und Blätter (ohne Wunden)	am 27. August
2) Blätter von oben (ohne Wunden)	am 7. September
3) Der Stengel (ohne Wunden)	keine
4) Blattstiele (mit Wunden)	am 13. September
5) Blätter von der oberen Seite (ohne Wunden)	am 2. September
6) „ von der unteren Seite (ohne Wunden)	keine.

Ueberall, wo sich die Krankheit gezeigt hat, waren die Merkmale ganz zutreffend und die erkrankten Blätter und Blattstiele zeigten dieselben Bakterien massenhaft.

Um die Bakterien, welche die Krankheit bei *Sesamum* verursachen, näher zu studieren, nahm ich Isolierungen derselben vor. Ich konnte auf diese Weise zwei Arten von Bakterien isolieren, deren eine kurze, die andere lange Stäbchen sind. Die ersteren bilden gelbe und die zweiten weiße Kolonien innerhalb 24 bis 48 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur. Alle beide haben eigene Bewegung. Auf Bouillongelatine und Bouillon-Agar-Agar wachsen sie sehr üppig. Die Gelatine wird bald von den Bakterien verflüssigt. Besonders üppig wachsen aber die Bakterien auf 10-proz. Extrakt von *Sesamum*-Blättern + Pepton + Gelatine.

Bei Stichkulturen auf Nährbouillongelatine bilden die Bakterien schneckenförmige Figuren.

Ich habe ebenso auch Impfversuche mit Reinkulturen vorgenommen und hier und da die Krankheit hervorgerufen. Diese schreitet aber nicht so schnell fort, da die *Sesamum*-Pflanzen zu dieser Zeit schon ganz verhärtet sind. Impfungen auf Blätter und Blattstiele zeigten die Krankheit schon nach 7—8 Tagen.

Weitere Versuche zum Studium der Bakterien sind im Gange.

Um mich zu überzeugen, ob diese Krankheit wirklich die ist, über welche die Bauern klagen, reiste ich am 25. August in die Gegenden, welche am meisten *Sesamum* bauen. Dort fand ich die Krankheit ebenso vor; sie war aber in dem Jahr nicht so verbreitet, wie sonst, wegen der großen Dürre, welche den ganzen

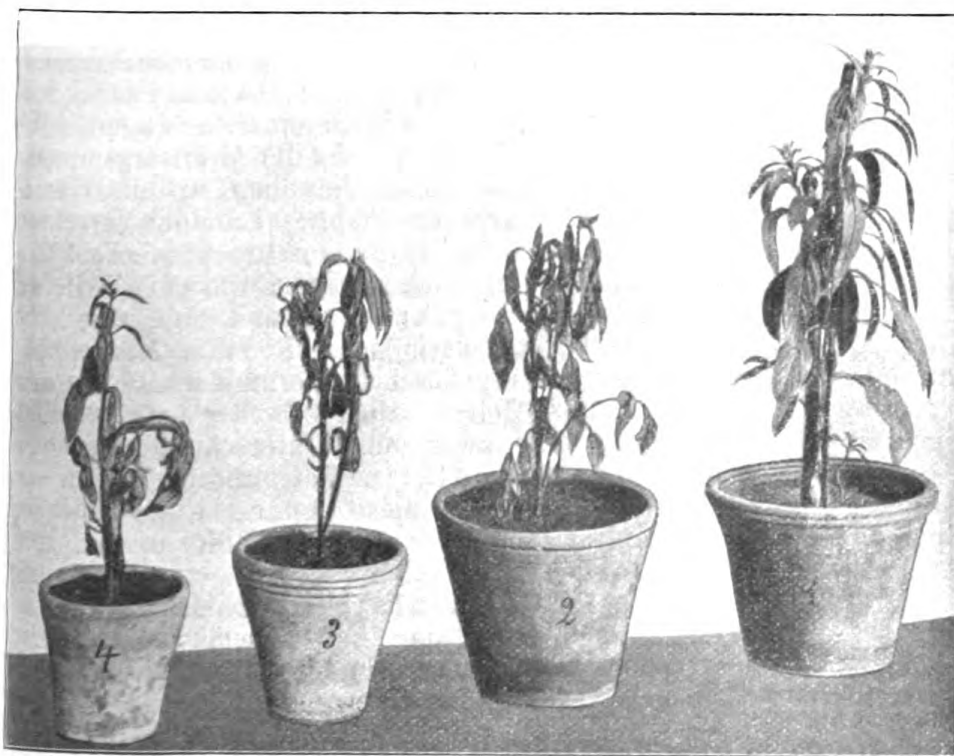


Fig. 1. Ganz normale *Sesamum*-Pflanze.

Fig. 2. Pflanze von der Bakterienkrankheit befallen, aber noch im Anfangsstadium.

Fig. 3. Mehr krank und

Fig. 4 ganz krank und sogar ein Trieb ganz schwarz geworden und herabgebogen.

Sommer geherrscht hatte. Aus Gesprächen, welche ich mit vielen Bauern in verschiedenen Dörfern hatte, konnte ich aber erfahren, daß die Krankheit in anderen Jahren sehr großen Schaden anrichtet und sehr oft die ganze Ernte vernichtet.

Die oben beschriebene Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale* wird wahrscheinlich mit der Saat von einem Ort zum anderen verbreitet. Die Versuche in Sadovo zeigen das sehr

deutlich. In Sadovo war *Sesamum* überhaupt nicht mehr gebaut worden, und die Krankheit haben wir wahrscheinlich mit der Saat, welche aus dem Kreise Harmanli geliefert war, wo die Krankheit schon lange der Bevölkerung bekannt ist, eingeschleppt.

Sadovo, Oktober 1903.

Referate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Lindner, P., Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XX. No. 43. p. 505—506.)

Von Blüten von *Robinia Pseudacacia* konnte Verf. zunächst durch Abspülen mit sterilem Wasser *Dematium*-Sproßzellen, *Oidium*-, *Alternaria*- und vereinzelt andere Pilzsporen isolieren. Zur weiteren Untersuchung der Mikroorganismenflora auf diesen Blüten stopfte Verf. dieselben in ein Würzefläschchen, füllte dieses mit Würze und impfte nach dem Verrühren mit ein paar Tropfen Würze ein anderes Würzefläschchen. In diesem entwickelten sich hauptsächlich wieder *Dematium*-Hefen, *Oidium*, *Saccharomyces apiculatus* und eine elliptische Hefe mit großem Sporenbildungsvermögen. In einer Federstrichkultur aus diesem letzteren Würzefläschchen erhielt nun Lindner Gruppen von *Apiculatus*-Zellen, die teilweise sehr deutlich Sporen gebildet hatten; und zwar zum Unterschied einer von Beijerinck beobachteten *Apiculatus*-Hefe, die in der freien Natur Sporen gebildet hatte, hatte diese *Apiculatus*-Hefe die Sporen erst in der Kultur gebildet. Versuche, die Sporen zum Auskeimen zu bringen, blieben erfolglos.

Morphologisch steht die *Apiculatus*-Hefe dem *Saccharomyces Ludwigii* nahe, während bei diesem jedoch meist 3—4 Sporen in der Sporenmutterzelle gebildet werden, hat sich die *Apiculatus*-Hefe bisher stets einsporig gezeigt.

Mohr (Berlin).

Lindner, P., Die biologische Analyse der untergärigen Bierhefe mit Hilfe eines Vortrocknungsverfahrens. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XX. No. 33. p. 369—370.)

Zum Nachweis von wilder Hefe in Bottichhefe, der wegen des ungeheuren Ueberwiegens der Kulturhefe nach den üblichen Methoden nur schwierig gelingt, empfiehlt Verf. eine Vortrocknung des Untersuchungsmateriales, auf Grund der Beobachtung, daß Kulturhefen gegen Eintrocknen, auch bei sehr niederen Temperaturen, außerordentlich empfindlich, während wilde Hefen sehr widerstandsfähig sind, so daß auf diese Weise eine sehr starke Anreicherung von wilden Hefen in den lebendig gebliebenen Zellen stattfindet. Verf. schlägt vor, die zu untersuchende Hefe an steriler Unterlage trocknen zu lassen, dann mit sterilem Wasser einzurühren und aufs Deckgläschen in Form der Adhäsionskultur, jedoch nicht

in zu dünner Schicht aufzulegen. Nach 1—2-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur, event. auch bei etwas höherer, ist die Probe zu mikroskopieren, vorhandene wilde Hefen werden durch deutlich ausgebildete Kolonien verraten.

Mohr (Berlin).

Referate.

Schaudinn, Fr., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus Bütchlii* n. sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. p. 306—344.) 1 Taf.

B. Bütchlii dürfte zu den interessantesten und wichtigsten in letzter Zeit beschriebenen Bakterien gehören. Er wurde von S. im Darm der Küchenschabe, *Periplaneta orientalis*, als nicht gerade häufiger Parasit entdeckt, und zeichnet sich einerseits durch seine auffallende Größe, andererseits durch eine sehr merkwürdige Art der Sporenbildung aus. — Die Länge dieses Riesen unter den Bakterien schwankt zwischen 27 μ und 80 μ , die Dicke zwischen 3 μ und 6 μ . Die cylindrischen Stäbchen sind beweglich, die Bewegung ist nicht sehr lebhaft; die Geißeln stehen peritrich und „scheinen in einer homogenen Hüllsubstanz, welche die ganze Zelle umgibt, ihren Ursprung zu nehmen“. Die Membran der Zelle ist derb und deutlich doppelt konturiert; mittels aufquellender Mittel läßt sie sich zur Abhebung von Zellinhalt bringen. Chemische Reaktion weisen auf eiweißartige Beschaffenheit der Membran hin. Das Plasma zeigt regelmäßig netzartige Struktur, die Verf. „für den optischen Ausdruck eines Alveolensystems im Sinne Bütchlis“ hält. Der Durchmesser der Netzmaschen beträgt 0,5 bis 1 μ , die Knotenpunkte sind eingenommen von stark lichtbrechenden Körnchen, die Alveolen von wasserheller Flüssigkeit. Die peripherischen Netzfäden sind radiär angeordnet und bilden dadurch einen „Alveolarsaum“, der sich von dem Innenplasma (Bütchlis „Zentralkörper“?) scharf abhebt. Da die Membran nach Flächen- und [optischen] Längsschnittbildern das Aussehen eines Netzwerks bietet, scheint es gerechtfertigt, sie als verdichtete äußere Alveolenlage des Plasmas zu betrachten. Besondere kernartige Einschlüsse neben den Körnchen in den Knotenpunkten der Plasmaalveolen sind nicht vorhanden. Die Körnchen speichern alle sogenannten Kernfarbstoffe. Ein morphologisch-differenzierter Zellkern existieren also nicht. Die Kernsubstanzen, welche sonst zu einem solchen vereinigt sind, erscheinen nach des Verf. Ansicht hier im vegetativem Zustand noch diffus durch das Plasma verteilt.

Ganz eigenartig verlaufen die Teilung und besonders die Sporenbildung. Der erstere Vorgang beginnt mit dem Auftreten eines größeren, stärker lichtbrechenden Körnchens in der späteren Teilungsebene. Dies Körnchen, wahrscheinlich durch Verdichtung der Zellsubstanz entstanden, verbreitert sich allmählich zu einer die Zelle der Quere nach halbierenden Scheibe. In der Mitte derselben tritt dann ein Spaltraum auf, der, nach der Peripherie weitergreifend,

die Membran völlig spaltet. Die so entstandenen Tochterzellen sind halb so groß wie das normale Stäbchen. Eine besondere Vergrößerung der Mutterzelle geht also der Zellteilung nicht voraus.

Die Sporenbildung findet erst statt, wenn eine Reihe von Generationen durch Teilung entstanden sind, und unterscheidet sich von der gewöhnlichen Endsporenbildung dadurch, daß sie durch einen unvollständigen Teilungsvorgang eingeleitet wird und weiter dadurch, daß in jedem Stäbchen stets zwei Sporen gebildet werden. — Die zur Sporenbildung reifen Stäbchen besitzen dieselbe Netzstruktur wie die vegetativen, nur sind die eingelagerten Granula viel größer und stärker lichtbrechend. In einem solchen Stäbchen tritt nach ca. 30 Minuten in der Mitte ein größeres, helleres Korn auf, das sich genau wie bei der vegetativen Teilung in 20—40 Minuten zu einer quer gelagerten Scheidewand verbreitert. Diese Platte bleibt ca. 1—2 Stunden unverändert, wird dann aber nicht gespalten, sondern im Laufe einer halben Stunde völlig resorbiert, so daß die Zelle genau wieder aussieht wie vorher. Dann tritt eine sehr bemerkenswerte Erscheinung auf, nämlich eine Protoplasmaströmung, die sehr langsam einsetzt, nach ungefähr $\frac{1}{2}$ Stunde ihre größte Geschwindigkeit erreicht, dann allmählich nachläßt und nach im ganzen ungefähr $1\frac{1}{2}$ Stunde beendet ist. Die Strömung gibt sich zu erkennen an der Bewegung der Granulationen, die sich im allgemeinen vom Zentrum aus auf der Längsachse nach den Polen zu bewegen, hier springbrunnenartig umbiegen und der Wand entlang zum Zentrum zurückgleiten. Die Körnchen werden dabei etwas in die Länge gezogen. — Beim Ausklingen der Strömung kehren sie aber nicht mehr zu der ursprünglichen regelmäßigen Anordnung zurück, sondern treten zu einem in der Längsachse liegenden, leicht geschlängelten Bande zusammen. Zugleich beginnen die Granulationen sich an den Polen der Zelle zur Sporenanlage zu sammeln. Die Sporenanlage wächst auf Kosten des Körnerbandes. Sie ähnelt nach Ansicht des Verf. eine Zeitlang einem alveolär gebauten Zellkern. Die sehr groß werdende Anlage kontrahiert sich nach einiger Zeit, wobei die Körnchen verschmelzen und die Alveolenflüssigkeit ausgestoßen wird. Der reguläre Alveolarsaum, der während der Kontraktion die Sporen umgab, verdichtet sich nach derselben zu einer dicken, schwach lichtbrechenden Membran. An den inneren Polen dieser Sporenmembranen bildet sich bald nochmals eine Anhäufung von Zellsubstanz, die, von den inneren zu den äußeren Sporenpolen übergreifend, eine zweite Hülle bildet, die an dem einen Pol sehr dick ist, nach dem anderen Pol zu sich auskeilt und diesen Pol selbst frei läßt. Die freie Stelle bildet eine Art Keimporus.

Hier durchbricht der Keimling die Sporenhäute und wächst allmählich zu einem langen Stäbchen aus, wobei das hintere Ende lange in der Spore stecken bleibt. Die Bewegung des Keimlings beginnt schon, wenn er die zusammengefallene Sporenhülle noch nicht abgestreift hat.

Wie schon erwähnt, ist Verf. der Ansicht, daß die Kernsubstanzen bei B. Bütschlii in den vegetativen Stadien diffus

durch das ganze Plasma verteilt sind; „nur bei der Sporenbildung kommt es zur Ausbildung eines den echten Zellkernen der höheren Organismen vergleichbaren Gebildes“. Die unvollständige Teilung und darauffolgende Verschmelzung des Inhaltes vor der Sporenbildung hält S. für einen sehr hohen Grad von Selbstbefruchtung, vergleichbar dem von R. Hertwig bei *Actinosphaerium* entdeckten, wo die direkten Abkömmlinge derselben Zelle miteinander kopulieren.

E. Hannig (Straßburg).

Schaudinn, Fr., Beitrag zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. II. *Bacillus sporonema* n. sp. (Arch. f. Protistenkunde, Bd. II. 1903. p. 421—44.) 1 Taf.

Im Vergleich zu B. Bütschlii (s. vorstehendes Referat) ist der gleichfalls bewegliche, peritriche *B. sporonema* ein kleines Stäbchen, das hauptsächlich wegen seiner höchst merkwürdigen Art der Sporenbildung Interesse verdient. Verf. fand den *Bacillus* in Kulturgläsern, die mit marinen Foraminiferen öfters aus Rovigno nach Berlin geschickt wurden. Der *Bacillus* ließ sich aus den Kahlhäuten dieser Kulturen dadurch isolieren, daß ein Stückchen der fast nur aus Sporen bestehenden Kahlhaut mit feinen Glasnadeln zerteilt, ein solches Teilchen in einen winzigen Kulturtropfen übertragen und, falls bei der Durchmusterung mittels Immersion als zweifellos rein befunden, zu Kulturen im hängenden Tropfen benutzt wurde. Bei den soweit als möglich an lebendem Material ausgeführten Untersuchungen ergab sich folgendes: Die Stäbchen sind 3—8 μ lang, $\frac{3}{4}$ —2 μ breit. Die peritrichen Geißeln „scheinen“ von einer strukturlosen, gallertigen Hülle zu entspringen. Das Plasma zeigt nicht den regelmäßigen wabenartigen Kern wie bei B. Bütschlii, sondern bald nur eine Reihe Alveolen (Vakuolen?) gleicher oder verschiedener Größe, bald, besonders bei älteren Stäbchen, 2 bis 3 Reihen. In dem ursprünglich homogenen Plasma erscheinen, bis zur Sporenbildung zunehmend, Körnchen in wechselnder Zahl und Lichtbrechung, die sich mit Hämatoxylin etc., nicht mit Jod färben ließen, deren Natur aber nicht genauer festgestellt wurde. In 2 bis 3 Tage alten Kulturen treten spindelförmige, keulenförmige oder auch verästelte Involutionsformen auf. Die von einigen Forschern ausgesprochene Ansicht, daß die verzweigten Involutionsformen auf eine Abstammung von mycelartigen Vorfahren (Pilzen) hinweise, erscheint Verf. nicht unsympathisch, wenn auch nicht einwandfrei.

Die Zellteilung macht den Eindruck einer Durchschnürung, jedoch ließen sich, außer der ringförmigen Einschnürung in der Teilungsebene bei Beginn der Teilung keine Einzelheiten feststellen. Jedenfalls ist also die Teilung eine andere als bei B. Bütschlii.

Die interessanteste Eigentümlichkeit ist die Sporenbildung. Sie wurde, meist am dritten Tage nach der Keimung, nur an dicken, körnchenreichen Stäbchen beobachtet. Ähnlich wie bei B. Bütschlii geht ihr regelmäßig ein Zellteilungsversuch voraus. Es findet nämlich in der Mitte der Zellen eine Einschnürung statt, der aber keine Scheidewandbildung folgt. Vielmehr erscheint in der Teilungsebene ein anfangs kleines, allmählich größer werdendes Kügelchen, das

sich mit Hämatoxylin sehr dunkel färbt. Gleichzeitig verschwinden von den Polen nach der Mitte fortschreitend die Körnchen, jedoch ohne daß Plasmaströmung, wie bei *B. Bütschlii*, zu bemerken wäre. Jetzt treten die für *B. sporonema* charakteristischen Eigentümlichkeiten auf. Einerseits wird nämlich das Stäbchen an der Einschnürungsstelle durch die sich vergrößernde Spore bauchig aufgetrieben, andererseits ziehen sich die nicht von der Spore eingenommen Enden des Stäbchens in die Länge, wobei die mittleren Teile dieser Enden dicker bleiben als ihre Pole, so daß das „Sporangium“ im ganzen 3 Aufbauchungen zeigt. Jetzt wachsen aber die beiden polaren Spindelteile in entgegengesetzter Richtung zu langen, dünnen Fäden aus, während gleichzeitig die Sporenanlage weiter anschwillt und zuletzt scharfe Konturen erhält. Die reife Spore ist fast halb so lang als die Mutterzelle, jeder der beiden haarfeinen Polfäden ca. $2\frac{1}{2}$ mal so lang als dieselbe. Dadurch, daß meist zahlreiche Stäbchen sporulieren und die Polfäden sich wirr miteinander verflechten, entstehen große Filzwerke von Sporen auf der Oberfläche des Wassers. Verf. betrachtet diese eigenartige Erscheinung als eine Anpassung an das Leben in der Brandungszone, da einerseits die Fäden eine direkte Verankerung an Fremdkörper im Flutbereiche bewirken, andererseits von dem Entstehungsort fortgerissene Sporen bei Anschwemmung an eine andere Uferstelle zur Verankerung bringen können. Bei der Keimung schwillt die Spore bis auf das Doppelte an, dann tritt plötzlich durch einen äquatorialen Riß in der eiförmigen Spore der Keimling als kleiner blasser Buckel hervor. Mit dem Keimling tritt eine zarte, flockige, gekörnelte Masse aus der Sporenhaut. Nach etwa einer Stunde beginnt das Stäbchen sich zu bewegen.

Alles in allem betrachtet der Verf. den *B. sporonema* als einen Organismus, „der noch auf eine niedrigere Stufe der Organisation gesunken ist (oder stehen geblieben ist?) als *B. Bütschlii* und keinen Zellkern während der ganzen Entwicklung besitzt.“

E. Hannig (Straßburg).

Cannon, Matthew J., Diastase. (Coventry Brewers Gazette. XXVII. No. 684—685.)

Der Verf. gibt unter Berücksichtigung der Arbeiten Payens und Persozs, Kirchhoffs, C. O. Sullivans, Lintners, Osbornes, Kjeldahls, Browns, Morris, Wroblewskis und anderer einen Ueberblick über die Eigenschaften der (Malz)-Diastase, jenes die Stärke verflüssigenden und verzuckernden Enzyms. Darnach ist die Diastase ein weißes, zuweilen leicht gelbes Pulver, das sich schnell in kaltem Wasser löst und dabei schwach opalisierende Flüssigkeiten bildet, die beim Erhitzen (auf $100\text{--}140^\circ$) infolge Koagulation des Enzyms, womit eine Verringerung der Wirksamkeit der diastatischen Substanz verbunden ist, trüb werden. Feste, trockne Diastasepräparate können dagegen auf 120° erhitzt werden, ohne an Wirksamkeit zu verlieren. Die Verzuckerung der Stärke durch die Diastase erfolgt bei $15,5\text{--}74^\circ\text{C}$, während die verflüssigende Wirkung der Diastase auf Stärke noch bei $93,5^\circ\text{C}$ nicht vollkommen zerstört ist. Bei Temperaturen

zwischen 60—74° nimmt die Maltose ab und das Dextrin zu, bis bei der höheren Temperatur das Dextrin fast das einzige Produkt der Einwirkung der Diastase auf Stärke ist. Außer freier Maltose entstehen noch Maltodextrine und Amyloine. Bei gleichen Zeitintervallen und unter bestimmten Verhältnissen ist die durch die Diastase umgewandelte Stärkemenge proportional dem Betrag des vorhandenen aktiven Enzyms. Ferner ist es bei der Einwirkung der Diastase auf Stärke von Wichtigkeit, daß das Medium (die Lösung) in welchem die Diastase ihre Tätigkeit entfaltet, neutral reagiert, da schon geringe Säure bzw. Alkalimengen außerordentlich schädlich wirken. Saure Salze dagegen, wie die Phosphate, scheinen einen günstigen Einfluß auszuüben. Zum Schluß ist noch die Lintnersche Methode zur Bestimmung der verhältnismäßigen Wirksamkeit verschiedener Malzproben, welche auf dem Kjeldahlschen Proportionalitätsgesetz beruht, beschrieben.

Kausch (Charlottenburg).

Wels, Fr., Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). [Autorisierte Uebersetzung aus Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. 1903.] (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. Neue Folge. Jahrg. XXVI. 1903. Heft Nr. 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 33, 34, 36, 37, 38, 39.)

Die auf Anregung Kjeldahls unternommene und an der Hand eingehender Untersuchungen durchgeführte Arbeit gibt Kenntnis über die Beschaffenheit der proteolytischen Enzyme in der keimenden Gerste und bringt damit Klarheit über das Wesen dieser Enzyme, deren Existenz bisher von verschiedener Seite angezweifelt wurde. Der Verf. giebt zunächst einen Ueberblick über die bisherigen diesbezüglichen Arbeiten von Gorup-Besanez und Will, Schulze, Krauch und Kjeldahl, welcher letzterer durch seine Versuche das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms im Malz zur Evidenz bewiesen und bereits wichtige Grundlagen für dessen Abhängigkeitsverhältnis zu äußeren Faktoren geschaffen hatte. Er erwähnt sodann weiter die Arbeiten Greens (Feststellung eines proteolytischen Enzyms in Samen und Keimpflanzen von *Lupinus hirsutus*, *Ricinus communis* und *Cucumis utilissimus*), Neumeisters, Wittichs und Wurtzs, sowie Johannsens, Boleslaw de Verbuo Laszynskis, Loës, Windischs und Schellhorns, Fernbachs und Huberts, Petits und Labowasses. Sodann folgt eine Zusammenstellung der allgemeinen Gesetze für die Proteolyse. Die vom Verf. in der keimenden Gerste und in einem aus dieser dargestellten wässrigen Auszuge als existierend bewiesenen beiden Enzyme sind die Peptase — diese besorgt die erste Phase der Proteolyse (den Abbau in Albumosen und Peptone — und die Tryptase — diese führt den Abbau über das Peptonstadium herbei.

Weiterhin sind Versuche über die Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Temperatur, der Fermentmenge und der Konzentration des Proteins angestellt worden. Ferner wurde konstatiert, daß die Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Zeit sehr verschieden ist und von der Temperatur, der Fermentmenge, der Reaktion der

Versuchsflüssigkeit, der Anwesenheit fremder Stoffe, (Säuren, Basen, Alkohol) beeinflusst wird.

Endlich wurden noch die chemischen und physikalischen Eigenschaften der gefundenen Enzyme ermittelt, sowie darüber Untersuchungen angestellt, welche Eiweißkörper sie umzuwandeln vermögen, welche Stoffe bei ihrer Wirksamkeit aus dem Protein gebildet werden, wann sie in der jungen Keimpflanze auftreten oder ob sie bereits in der ungekeimten Gerste in aktivem Zustande oder als Zymogene vorhanden sind. Die Resultate der sämtlichen, in großer Anzahl durchgeführten Versuche sind in übersichtlicher Weise auf einer stattlichen Reihe von Tafeln graphisch dargestellt.

Kausch (Charlottenburg).

Delbrück, M., Die Anwendung der Enzymforschung auf die Essiggärung. (Die deutsche Essigindustrie. Jahrg. VII. 1903. Heft No. 29 und 30.)

Verf. giebt zunächst einen Ueberblick über die Entwicklung der Enzymforschung unter Würdigung der Arbeiten von Buchner, Stoklasa, Hayduck, Windisch, Lange, Konnstein, Fleck, Lindner, Wortmann, Michaelis und erstattet sodann Bericht über die auf dem Gebiet der Enzymforschung bei der Essiggärung gelösten Probleme wie Rassenfrage und Akklimatisation. Die hierauf bezüglichen Arbeiten sind von Rothenbach, Wilke, Parow und Henneberg ausgeführt worden. Ferner gelang es Prof. Buchner, den Nachweis zu erbringen, daß es, wie bei anderen Pilzen, besonders den Hefepilzen, Enzyme sind, deren sich der Essigpilz bedient, um Sauerstoff auf den Alkohol zu übertragen. Buchner wies nach, daß der Essigsäure- und der Milchsäurepilz auch nach ihrer Abtötung imstande sind, Gärarbeit zu leisten, und zwar erzeugt der tote Essigsäurepilz aus Alkohol Essigsäure und der tote Milchsäurebazillus aus Zucker Milchsäure. Voraussetzung ist allerdings dabei, daß der tote Essigpilz vorher gelebt und in seinem Lebensprozeß das essigbildende Enzym (Essigoxydase) hervorgebracht hat. Damit sind der Wissenschaft die Pfade gewiesen, auf denen sie zu neuen, wichtigen Ergebnissen für die Essigindustrie kommen muss. So muss der richtige Essigpilz ausgewählt, gezüchtet, akklimatisiert und sodann gezwungen werden, reichlich Oxydase zu bilden, damit eine starke und vollkommene Essiggärung entsteht. Bei der Schnellessigfabrikation wird man dann bei einem Minimum von Essigpilzen die größte Wirkung erzielen, wenn es gelingt, den Essigpilz zu immer erneuter Erzeugung von Oxydase zu zwingen. Letztere wird durch Hinzusetzen von Nährsalzen zur Essigmaische erzielt, weshalb man diese Salze in Zukunft Enzymbilder nennen soll. Aufgabe der neueren Forschungsrichtung ist es, die Fähigkeit der Essigpilze zu studieren, Oxydase zu bilden.

Kausch (Charlottenburg).

Ikeno, S., Die Sporenbildung von Taphrina-Arten. (Flora. Bd. XCII. 1903. Heft 1. p. 1 f.)

Die von Dangeard angegebene Verschmelzung von 2 Kernen im jüngsten Stadium der askogenen Zellen wurde vom Verf. beob-

achtet bei *Taphrina Johansonii*, *cerasi*, *pruni*, *deformans* und *Kusanoi* n. spec. Die Kernvakuole erleidet im weiteren Verlaufe der Ascusentwicklung eine Desorganisation und schließlich liegt der ursprüngliche Nucleolus frei im Cytoplasma. Dieser Nucleolus stellt einen Chromatinkörper dar und kann als ein Zellkern der einfachsten Art angesehen werden. Der Chromatinkörper kann sich nun sogleich teilen (z. B. bei *Taphrina cerasi*, karyokinetisch oder bei *Taphrina Kusanoi* und *Johansonii* durch Sprossung) und produziert stets eine Anzahl von kleineren Chromatinkörpern. Stets erfolgt die Sporenbildung so, daß ein Teil des Ascuscytoplasmas um jeden durch Teilung entstandenen Chromatinkörper als Mittelpunkt sich zusammenzieht. Um diese Plasmamasse wird erst die Zellmembran ausgeschieden. Natürlich bleibt ein Teil des Ascuscytoplasmas unverbraucht; es ist dies das Epiplasma oder die Zwischensubstanz der Autoren.

Matouschek (Reichenberg i. B.).

Ulplani, C. e Sarcoli, L., Sulla fermentazione alcoolica del mosto di fico d'India. (Gazzetta chimica. [2]. XXXI. p. 395.)

— — Fermentazione alcoolica del mosto di fico d'India con lieviti abituati al fluoruro di sodio. (Atti d. R. Accademia d. Lincei. XI. 1903. p. 173.)

In der ersten Arbeit hatten Verff. gefunden, daß die spontane Gärung des Mostes aus *Opuntia*-Feigen unter den gewöhnlichen Bedingungen für die industrielle Spiritusfabrikation absolut untauglich ist. Sterilisiert man den Most und tut man reine Alkoholhefe hinzu, so bekommt man ebenso eine verschwindende Alkoholbildung, weil z. B. *Saccharomyces Pastorianus* II sehr rasch von *Saccharomyces Opuntiae* überwuchert wird.

In der zweiten Schrift berichten Verff. über Fortsetzung der Versuche. Durch theoretische Erwägungen Effronts angeregt, haben sie auf 0,25-proz. Fluornatrium enthaltenden Nährlösungen gewachsenen *Saccharomyces Pastorianus* II angewandt. Es stellte sich heraus, daß in 0,15-proz. Natriumfluorid enthaltendem *Opuntia*-Most die Tätigkeit von *Sacch. Opuntiae* und jeder Art Bakterien (Milchsäure-, Mannitbakterien u. s. w.) vollständig gehemmt wird, während *Saccharomyces Pastorianus* II so tüchtig arbeitet, daß der Alkoholertrag fast den theoretisch zu erwartenden Wert erreicht, was für Süditalien von großer Wichtigkeit ist.

Pantanelli (Zürich).

Bokorny, Th., Kann Hefe mit Formaldehyd ernährt werden? (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1903. 13. Mai.)

Die Versuche wurden sowohl mit freiem Formaldehyd als auch mit formaldehyd-schwefligsaurem Natron angestellt.

Wir können aus diesen Versuchen entnehmen, daß die Hefe Formaldehyd nicht als Kohlenstoffnahrung zu verwenden vermag. Dieselbe stellt sich damit in einigen Gegensatz zu den grünen Pflanzen, welche aus formaldehyd-schwefligsaurem Natron Stärke zu bilden vermögen; freier Formaldehyd

ist auch für grüne Pflanzen eine ungünstige, giftige Nahrung. Hingegen ernährt sich der in den Lösungen 1 bis 4 gewachsene Spaltpilz offenbar sehr leicht von dem in Gestalt von formaldehydschwefligsaurem Natron dargebotene Formaldehyd. Schon am dritten Tag zeigt sich erhebliche Pilzvegetation, was bei der geringen Menge, in der jener Pilz von Anfang an da war (als Verunreinigung der Preßhefe), einiges Erstaunen erregen muß. Rascher wächst die Hefe selbst kaum zur sichtbaren, Trübung hervorrufenden Menge heran, wenn man eine unsichtbare Spur davon zu einer sehr guten Gär- und Nährlösung setzt.

Gegen andere Aldehyde verhält sich die Hefe nicht wesentlich günstiger als gegen Formaldehyd.

Glyoxal, COH.COH , ist nach O. Loew (Centralbl. für Bakt. 1892. No. 11 und 12) untauglich zur Pilznahrung überhaupt.

Aethylaldehyd, $\text{CH}_3.\text{COH}$, eignet sich nicht zur Kohlenstoffernährung der Hefe. In einer Nährlösung, welche 1:10000 Aethylaldehyd enthielt (als einzige Kohlenstoffquelle), trat nach 8 Tagen Trübung durch Spaltpilze ein; bei Verdünnung 1:5000 stellten sich etwas später Schimmelpilze ein, welche als Rasen in der Flüssigkeit schwammen und an der Wand festsäßen; bei 1 Promille Aldehydgehalt trat lange keine Pilzvegetation ein; erst als die Flüssigkeit (durch Oxydation eines beträchtlichen Teiles des Aldehydes zu Essigsäure) saure Reaktion angenommen hatte, nach 20 Tagen, stellte sich eine Schimmelpilzvegetation ein, welche bald sehr mächtig wurde.

In 0,1-proz. Lösung von Para-Oxybenzaldehyd (mit den anderen nötigen Nährstoffen, aber ohne sonstige Kohlenstoffquelle) wächst Schimmel, nicht aber Hefe. Binnen 3 Wochen war ein mächtiger Schimmelrasen in der Lösung gewachsen.

Orthonitrobenzaldehyd erwies sich als sehr giftig; denn in 0,1-proz. Auflösung dieses Stoffes starben alle hineingebrachten tierischen und pflanzlichen Zellen binnen 6 Stunden ab. Sogar in 0,2-proz. Auflösung zeigte sich bald beginnendes Absterben, und nach 24 Stunden waren sämtliche Zellen auch in dieser sehr verdünnten Auflösung vergiftet. Auch die 0,01-proz. Auflösung war noch schädlich, und erst in 0,005-proz. Lösung blieben Pflanzen und Tiere 24 Stunden lang intakt.

Mit Hefe bei einer so giftigen Substanz Nährversuche anzustellen, wäre zwecklos.

Autoreferat.

Bokorny, Th., Zur Frage der Kohlensäure-Assimilation. (Chem.-Ztg. Bd. XXVII. 1903. No. 44.)

Diese den Pilzen größtenteils abgehende Fähigkeit ist bei den grünen Pflanzen bekanntlich zu großer Vollkommenheit entwickelt.

Die Umwandlung der Kohlensäure in Kohlehydrat geht nach v. Baeyer auf dem Wege über COH_2 vor sich:

„Wenn Sonnenlicht Chlorophyll trifft, welches mit Kohlensäure umgeben ist, so scheint die Kohlensäure dieselbe Dissoziation wie in höherer Temperatur zu erleiden, es entweicht Sauerstoff, und Kohlenoxyd bleibt mit dem Chlorophyll verbunden. Die

einfachste Reduktion des Kohlenoxydes ist die zum Aldehyd der Ameisensäure, es braucht nur Wasserstoff aufzunehmen: $\text{CO} + \text{H}_2 = \text{COH}_2$, und dieser Aldehyd kann sich unter dem Einflusse des Zellinhaltes ebenso wie durch Alkalien (nach Butlerow wird Formaldehyd durch Berührung mit Kalkwasser bei Kochhitze in einen zuckerähnlichen Stoff übergeführt. D. Verf.) in Zucker verwandeln“.

Fast gleichzeitig kam auch Kekulé auf den Gedanken, daß die Assimilation in der oben angegebenen Weise verlaufen müsse. Wie aus obigem Zitate hervorgeht, nimmt die Baeyer'sche Hypothese das Eingreifen von freiem Wasserstoff in den Reduktionsvorgang an. Da aber Wasserstoffbildung bis jetzt nur bei Gärungsvorgängen sicher beobachtet wurde und der Wasserstoff nicht wie der Formaldehyd ein Stoff ist, der durch weitere Reaktion im lebenden Protoplasma sogleich verschwinden muß, so ist es wohl erlaubt anzunehmen, daß H_2CO_3 durch den reduzierenden Einfluß des Chlorophyllapparates bei genügendem Lichtzutritt direkt zu H_2CO wird. Daß Formaldehyd durch Berührung mit verschiedenen Substanzen auch außerhalb der Zelle leicht in Zucker übergeht, hat O. Loew gezeigt.

Indessen läßt sich Formaldehyd nie in assimilierenden Pflanzenorganen nachweisen. Gegenteilige Behauptungen dürften auf Irrtum beruhen. Denn der Formaldehyd ist zu giftig und reagierfähig, um angehäuft zu werden.

Verf. brachte Spirogyren in a) reines Wasser mit einer Spur von Mineralsalzen; b) Wasser, dem Formaldehyd im Verhältnis von 1:20000 und außerdem eine Spur von Mineralsalzen zugesetzt worden war; c) Wasser mit Formaldehyd nur im Verhältnis von 1:50000 versetzt, dazu noch mit geringer Menge von Mineralsalzen. Als Mineralnahrung wurde in allen 3 Fällen Monokaliumphosphat, Calciumnitrat und Magnesiumsulfat verwendet. Nach 12 Stunden zeigte sich nun ein ganz merkwürdiger und auffallender Unterschied an den in gutem Lichte gestandenen 3 Proben. Bei a) waren die Algen emporgestiegen an die Oberfläche und schlossen zahlreiche Luftbläschen (Sauerstoff) ein, bei b) und c) verharrten sie am Boden der gläsernen Kulturgefäße und schlossen kein einziges Luftbläschen ein, trotzdem sie in gutem Lichte gestanden hatten und auch Kohlensäure genug zur Verfügung hatten (die Kulturflüssigkeit war mit gestandenem Wasser hergestellt und in großer Menge zugegeben worden (etwa 0,1 g Algen trafen auf 250 ccm). Die Assimilationstätigkeit wird also schon durch Formaldehyd von 1:20000, ja sogar durch 1:50000 gehindert! Wie soll da eine nachweisbare Menge von Formaldehyd sich ansammeln können? Die Pflanze würde sich selbst schädigen, wenn sie nicht die entstandenen CH_2O -Molekeln sogleich weiter verwenden und umwandeln würde. Die Annahme einer sofortigen Umwandlung des gefährlichen Stoffes (in Kohlenhydrat) hat übrigens gar nichts Unwahrscheinliches in sich. Denn Aldehyde reagieren leicht und kondensieren sich sehr leicht; die lebende Pflanzenzelle ist auch gewiß nicht

der Ort, wo leicht reagierende Stoffe unverändert liegen bleiben. Durch den Kontakt mit dem lebenden Assimilationsplasma kann ebensogut eine Verwandlung in Zucker stattfinden, wie bei Berührung mit Basen (Kalk u. s. w.). „Der Formaldehyd ist unter gewissen Bedingungen so leicht zu kondensieren, daß er sich gar nicht anhäufen kann, und durch Destillation wird man ihn wahrscheinlich nie aus den Blättern gewinnen können.“ Die Annahme hervorragender Chemiker, daß CH_2O das Zwischenprodukt bei der Assimilation der Kohlensäure sei, hat also auch dann noch ihre Berechtigung, wenn sich der Formaldehyd in den Pflanzen nicht nachweisen läßt.

Autoreferat.

Seifert, W., Ueber die Vergärung von Zitronensäure als Ursache einer Erkrankung des Johannisbeerweines. (Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1903. p. 738.)

Wie bei Trauben- und Obstweinen beobachtete man auch bei Beerenweinen und speziell bei Johannisbeerweinen eine ziemlich bedeutende Säureabnahme, und weisen dann derartige Weine eine abnormale, essigstichige Beschaffenheit auf. Der Johannisbeerwein trübt sich dabei schwach, scheidet einen weißen, leicht aufrührbaren Bodensatz ab und wird in der Farbe etwas lichter. Der Bodensatz zeigt neben zahlreichen Hefezellen die Anwesenheit vieler Stäbchenbakterien, welche ca. $2\ \mu$ lang und $1\ \mu$ breit und zu 2 bis 4 kurzen Ketten vereint sind. Verf. gelang es leider nicht, diese Bakterien, welche unzweifelhaft als die Ursache der krankhaften Veränderungen des Johannisbeerweines anzusprechen sind, in Reinkultur zu gewinnen. In der Folge wurde daher behufs Untersuchung der Gärungsvorgänge der die Bakterien enthaltende Bodensatz aus dem kranken Johannisbeerwein zur Versuchsanstellung verwendet. Die Untersuchungen haben nun ergeben, daß der zuweilen in Johannisbeerweinen auftretende stichige Geschmack nicht immer die Folge der Einwirkung von Essigbakterien ist, daß derselbe vielmehr durch Bakterien verursacht wird, welche die Zitronensäure zersetzen, dabei eine Säureverminderung verursachen und Essigsäure bilden. Auch das Vollhalten der Aufbewahrungsgefäße und die Verhinderung des Luftzutrittes zum Wein vermag das Auftreten dieses Gärungsstoffes nicht zu verhindern, insofern der Wein sich nach beendeter Gärung längere Zeit auf dem Gefäße befindet oder sich am Boden des Gefäßes hinreichend bakterienhaltiger „Trub“ (der gesamte Bodensatz des Weines) abgesetzt hat. Man wird daher bei Johannisbeerweinen, wenn man sie gesund und reinschmeckend erhalten will, die Sorge darauf richten müssen, den Wein nach beendeter Gärung so rasch als möglich klar zu bringen und eventuell durch einen schwachen Schwefeleinschlag die Entwicklung der Bakterien zu verhindern trachten.

Stift (Wien).

Benecke, W. und Keutner, J., Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee. (Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXI. 1903. p. 333. Mit 4 Textfiguren.)

Die Verff. zeigen, daß gewissen, im Meerwasser vorkommenden Bakterien die Fähigkeit zukommt, Stickstoff zu binden. Die Menge des gebundenen Stickstoffs ist (ähnlich, wie bei stickstoffassimilierenden Landbakterien) schwankend, nämlich 1—25 mg bei Darbietung von 4 g Kohlehydraten als Energiequelle. In den stickstoffbindenden Bakterienkulturen wurden von den Verff. unter anderen folgende Arten beobachtet: *Clostridium pastorianum* vergesellschaftet mit *Azotobacter chroococcum*, ferner ein anderes durch bedeutende Größe sich auszeichnendes *Clostridium*, von dem Verf. einstweilen als *Cl. giganteum* bezeichnet. Während für *Cl. pastorianum* auch von den Verff. der exakte Nachweis geliefert worden ist, daß dasselbe Stickstoff assimiliert, steht ein solcher für die neue *Clostridium*-Art noch aus. Der *Azotobacter* des Meerwassers stimmt vollkommen mit der landbewohnenden Form überein und kommt ebensowohl im Schlick wie im Plankton vor. Die Mitteilung ist als vorläufig anzusehen; nähere Aufschlüsse über die Beteiligung der einzelnen Bakterien an der Stickstoffbindung sollen nach Anstellung von Reinkulturen gegeben werden.

Neger (Eisenach).

Petri, L., Di un nuovo bacillo capsulato e del significato biologico delle capsule. (Nuovo Giornale botanico [2]. X. 1903. p. 272.)

Aus jungen Wurzelknollen von *Trifolium pratense*, aber nicht aus dem Boden kann man, insbesondere zur Zeit der größten Vegetationsperiode der Wirtspflanze, einen *Bacillus* isolieren, der am besten auf Peptonagar, nicht so gut auf Peptongelatine, besser nach Zusatz von Glukose citronengelbe, kreisrunde Kolonien bildet. Auf Glukosepeptonagar sind nach 24 Stunden bei 30° C die Kolonien schon sichtbar, später bilden sie einen peripherischen Saum aus nackten Zellen, während der Kern eingekapselte Elemente trägt, die sich aber bald vermehren und nach der Peripherie hinwandern, während am Zentrum neue nackte Zellen entstehen. Dieses mehrmals wiederholte Spiel führt zur Bildung eigenartiger Ringe. Die Kulturen auf Gelatine + Pepton oder + Wurzeldekot aus *Trifolium*, mit oder ohne Asparaginzusatz, sehen ganz und gar wie die beschriebenen aus, wachsen aber langsamer, sehr schnell auf Agar + Wurzeldekot. Als sehr guter flüssiger Nährboden erwies sich die Kombination Pepton + Glukose + Glycerin ohne Mineralsalze, deren Anwesenheit das Wachstum bedeutend hemmt.

Die fraglichen Bakterien sind kurze ($1-1,5 \times 0,5-0,75 \mu$), paarweise vereinigte Stäbchen mit abgerundeten Enden und färben sich weder mit Gram noch mit Anilinfarben. Sie sind obligat aërob und zeigen eine sehr komplexe Bewegung. Geißeln konnten nicht wahrgenommen werden; nach Fixierung in 2 Proz. Formalin (5-10 Tage) und Färbung mit wässerigem Safranin erschien aber ein ganz kleiner Polarfortsatz, dessen Bewegung durch vitale Färbung mit Methylgrün festgestellt wurde. Die beiden Bakterien des Paares stehen mit dem entgegengesetzten, wenig färbbaren, ruhigen Ende in Verbindung.

In alten Kulturen trifft man sehr oft $2,5 \times 1 \mu$ bis $15-20 \times 1-3 \mu$ große, undulierte Involutionenformen, in denen der Inhalt wie kontrahiert erscheint, was aber keine Sporenbildung darstellt.

Von großem Interesse erschien die Geschichte der eingekapselten Elemente. Jede Kapsel enthält ein bis mehrere Bakterien, die große Verwandtschaft für Kernfarben zeigen. Die Bakterien ebenso wie die Kapseln teilen sich nur in einer Ebene, so daß gewissermaßen Platten entstehen. Nach einer gewissen Zeit bildet sich eine Gallert-hülle um die Kapsel; oft ragt von dieser ein terminaler Fortsatz heraus, mit dem die eingeschlossene Bakterie in Verbindung tritt und verschmilzt; meist aber degenerieren nach Bildung der Gallerthülle die eingekapselten Elemente und gehen meist zu Grunde.

Werden mit Gallerthülle versehene Kapseln geimpft, so entwickeln sie sich nicht mehr; die jüngeren teilen sich dagegen sehr lebhaft oder entlassen zahlreiche nackte Bakterien. Um die Umimpfungen rasch und reichlich auszuführen, bedient sich Verfasser einer Gipsplatte, die etwa 150 senkrechte, gleich lange, abgerundete Glasstäbchen trägt und die, auf einmal sterilisiert, zur gleichzeitigen Impfung von 150 Tropfen dienen kann.

Die Bedingungen der Kapselbildung wurden durch zahlreiche Versuche festgestellt. Auf festem Boden entwickeln sich die Kapseln nur oben, wo ihnen Luft und Kondensationswasser zur Verfügung stehen. Werden Kapseln auf festen Substraten in Nährlösungen übertragen, so entwickeln sich nur wenige Kapseln, die sehr dünne Gallert-hüllen bekommen und bald wieder verschwinden. Gute Stickstoff- und Kohlenstoffversorgung, nicht zu hohe (30°) Temperatur, alkalische Reaktion begünstigen die Kapselbildung. Die Kapseln lösen sich in 10-proz. Kalilauge, in chlorhydrischem Pepsin, in Kalkwasser auf, während sie neutralen Salzen sehr gut widerstehen; sie sind also eiweißartig. Die eingeschlossenen Elemente gehen in solchen Medien zu Grunde, die die Kapseln angreifen.

Am Schluß erwägt Verf. die biologische Bedeutung der Kapseln. Da eingekapselte Elemente der Teilung fähig sind und sich oft mit der Kapsel selbst verschmelzen, nimmt Verf. an, daß die Kapselbildung nur ein äußerst labil induziertes Glied in der Entwicklung darstellt und vielleicht zu einer Vermehrung durch Verjüngung dient.

Den neuen Leguminosenbacillus, der mit *Ascobacterium luteum* Babés und *Bacillus capsulatus roseus* Ajtay eine gewisse Verwandtschaft zeigt, nennt Verf. *Bacillus capsulatus Trifolii*.
Pantanelli (Zürich).

Möller, A., Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden. (Zeitschr. für Forst- und Jagdwesen. Jg. XXXV. 1903. p. 257 u. 321.)

Während der erste Teil Angaben enthält über die Entwicklung der Wurzeln, sowie der ganzen Pflanzen unter dem Einfluß verschiedener Böden, bringt der zweite Teil sehr interessante Beobachtungen über die Mykorrhiza der Kiefer, welchen wir folgendes entnehmen:

Als eine verhältnismäßig seltene Erscheinung wird die Knollenbildung im unteren Teil des Wurzelsystems beschrieben, dieselbe kommt durch sehr häufig wiederholte Gabelung der bekannten ektotrophen Kiefernmykorrhizen zu stande.

Letztere bestehen in einem Pilzmantel, dessen Fäden intercellular die Rindenzellen netzförmig umwachsen — Th. Hartigs Flechtwerk. — Während einerseits die Gabelbildung ein untrügliches Zeichen für ektotrophe Wurzelverpilzung ist, muß betont werden, daß das Fehlen dieser Gabeln noch kein Beweis für mangelnde Wurzelverpilzung ist. Möller beobachtete nämlich ektotrophe Mykorrhiza auch an nicht gegabelten kurzbleibenden Seitenwurzeln der Kiefer. Niemals treten die das „Flechtwerk“ bildenden Mycelfäden in das Innere der Rindenzellen ein.

Wohl aber fand M. (schon im vorigen Jahre) an einjährigen Wurzeln der Kiefer (niemals an älteren Wurzeln) Pilzfäden, welche gewisse Teile der Wurzelrinde ausfüllen, die Wände der Zellen durchbohren und die Zellen ausfüllen. Aeüßerlich sind diese endotrophen Mykorrhizen daran zu erkennen, daß die Wurzel an der betreffenden Stelle dunkler erscheint und eine schwache Verdickung zeigt. Mit dem Mycel des „Flechtwerks“ haben diese intracellularen Mycelfäden nichts zu tun. Im April des zweiten Jahres werden alle pilzbefallenen Zellen durch die sich bildende Korkschicht abgestoßen. Ueber die Entwicklung des ektotrophen Mykorrhizen teilt Verf. folgendes mit:

Die netzartige Umwachsung der Rindenzellen durch Mycel ist schon weit fortgeschritten (Mitte Juli), wenn äußerlich von einer Mykorrhiza noch nichts zu sehen ist. Die Spitze der Hauptwurzel, ebenso die Enden der längeren Seitenwurzeln fallen niemals der Verpilzung anheim. Im August ist die Gabelbildung im vollen Gange; um diese Zeit können alle Entwicklungsstadien beobachtet werden, im September haben sämtliche Mykorrhizen ihre volle Entwicklung erlangt.

In der Frage, welche Pilze die Mykorrhiza der Holzpflanzen bilden, liefert Verf. einen sehr bemerkenswerten Beitrag.

In den meisten Fällen findet er einen bisher in Deutschland noch nicht beobachteten *Mucor*, den von Vuillemin in Nancy im Jahre 1886 entdeckten *M. heterogamus*. Derselbe wurde in Reinkultur erhalten aus den Mykorrhizen der Kiefer, Fichte, Weymouths-Kiefer und Eiche. Seltener wurden aus Kiefernmykorrhizen andere *Mucor*-Kulturen erzielt, wie z. B. *M. spinosus*, *M. racemosus* und endlich eine neue Art, vom Verf. *M. Ramannianus* genannt. Ob diese Pilze aber wirklich die Urheber der Mykorrhiza sind, daran kann vor der Hand doch noch gezweifelt werden.

Vor allem spricht dagegen, daß das Mycel der ektotrophen wie endotrophen Mykorrhiza mit seinen zahlreichen Querwänden und seiner Neigung zur Plectenchymbildung nicht recht mit *Mucor*-Mycelien übereinstimmen.

Der letzte Teil der Arbeit ist der Frage gewidmet, ob die Mykorrhiza befähigt ist, Stickstoff aus der Luft aufzunehmen.

Zu diesem Zweck wurden einjährige Kiefern und Eichen im gelben Sand a) unter Ausschluß alles Stickstoffs, b) unter regelmäßiger Zugabe einer dünnen Lösung von salpetersaurem Natrium gezogen.

Die mit Stickstoff gedüngten Pflanzen zeigten eine sehr reiche, die dem Stickstoffhunger ausgesetzten Pflanzen eine außerordentlich kümmerliche Entwicklung von Gabelmykorrhizen. M. schließt daraus, daß demnach die Mykorrhizen nicht die Fähigkeit haben bei Stickstoffhunger dieses Element der Luft zu entnehmen, sonst müßten sie bei den N-hungernden Pflanzen am kräftigsten entwickelt sein. (Dagegen wäre einzuwenden, daß nach den Versuchen von Hiltner nur die endotrophe Mykorrhiza als Stickstoff bindend in Betracht kommt, z. B. bei *Podocarpus*.) In diesem Sinne könnte auch die von Möller selbst angeführte Erscheinung aufgefaßt werden, daß nämlich die endotrophen Mykorrhizen der stickstoffhungrigen Kiefern nicht nur nicht in ihrer Entwicklung gehemmt, sondern eher kräftiger ausgebildet schienen. Die von Raman ausgeführten Analysen der Möllerschen Versuchspflanzen ergaben allerdings einen bedeutend höheren Stickstoffgehalt der mit Stickstoff gedüngten Kiefern und Eichen, als der stickstoffhungrigen. Das ist übrigens nicht wunderbar und jedenfalls kann daraus noch nicht mit Sicherheit der Schluß gezogen werden, daß die endotrophen Mykorrhizen nicht die Fähigkeit haben, Stickstoff aus der Luft aufzunehmen. Ihre Entwicklung war ja zu kümmerlich, als daß sie bedeutende Tätigkeit hätten entfalten können.

Neger (Eisenach).

Neger, F. W., Ein Beitrag zur Mykorrhizafrage: Der Kampf um die Nährsalze. (Naturw. Zeitschr. f. Land- und Forstwirtschaft. Jahrg. I. 1903. p. 372.)

Zweck der Untersuchung war, zu ermitteln, ob die Erscheinung, daß autotrophe Pflanzen im sterilisierten Boden besser gedeihen, als in nicht sterilisiertem, darauf zurückzuführen sei, daß dieselben im ersteren einen Kampf um die Nährsalze mit den konkurrierenden Pilzen zu bestehen haben (wie Stahl annimmt) oder ob dieses bessere Gedeihen der Versuchspflanzen durch günstigere physikalisch-chemische Verhältnisse des sterilisierten Bodens zu erklären ist. Zu diesem Zweck wurde *Lepidium sativum*, bzw. *Triticum vulgare* in 3 verschiedenen als a, b, c zu bezeichnenden Böden kultiviert. Der Boden a bestand aus nicht sterilisierter humöser Walderde, der Boden b aus sterilisierter solcher Erde; In c waren die Böden a und b zu gleichen Teilen gemischt. Obwohl Boden c reichlich Bodenpilze enthält, in ihm also der Kampf um die Nährsalze nicht viel weniger heftig sein mußte als im Boden a, gediehen die Versuchspflanzen in c fast ebenso gut wie in b, woraus wohl geschlossen werden darf, daß das vorzügliche Gedeihen der Pflanzen in sterilisiertem Boden weniger auf die fehlende Konkurrenz der Bodenpilze als auf günstige chemisch-physikalische Verhältnissen (verursacht durch die Sterilisation) zurückzuführen ist.

Neger (Eisenach).

Reuss, Hermann, Die Besenpfrieme (*Spartium scoparium* L.) die Amme (?) der Fichte. (Weißkirchener Forstliche Blätter. Heft. 2. Wien (Wilhelm Frick) 1903. p. 117–136. Mit 2 Textabbildungen.)

Die grundlegende Arbeit erregt nicht nur das Interesse des Forstpraktikers, sondern auch das des Bakteriologen. *Spartium scoparium* L. galt bisher als eines der lästigsten Forstunkräuter. Verf. gelangt nach gründlichem Studium jedoch zu dem Satze: „Die Besenpfrieme nimmt auf die Jugendentwicklung der Fichte einen eminent günstigen Einfluß, sie gibt dem Kulturbetriebe ein vorzügliches Mittel an die Hand, der Fichte, namentlich auf ärmeren Standorten, über die Jugendgefahren hinwegzuhelfen und ihre jungen Anlagen in frohem Gedeihen einem zeitigen Bestandeschlusse entgegenzuführen, mit dessen Eintritt die Zukunft der Fichte auch auf minderem Standorte in erfreulichster Weise gesichert erscheint“. Verf. konnte die wohltuende Wirkung der Besenpfrieme auf einem Versuchsfelde konstatieren; auf demselben wurden junge Fichten zwischen *Spartium* gepflanzt. Als Kontrolle diente ein ganz ähnliches Versuchsfeld ohne *Spartium*-Saat. Nach dem 4. Jahre zeigte die Fichte auf der ersteren Versuchsfeldfläche eine große Ueppigkeit der Benadelung, gute Färbung und erfreuliche Triebtätigkeit. Eine photographische Wiedergabe macht uns mit dem Aussehen der Kulturen der Fichte bekannt. Verf. bringt für den oben zitierten Satz folgende Gründe: 1) Die stickstoffsammelnde Tätigkeit des *Spartium* ist nachweisbar. Die Wurzeln dieser Pflanze zeigen einen dichten Belag von Knöllchen, welche bezüglich der Form mit denjenigen der landwirtschaftlichen Leguminosen übereinstimmen. Die Knöllchen sind oval, häutig, erreichen eine Länge bis zu 4 mm und eine Breite bis zu 2 mm, sind in lebensfrischem Zustande prall gespannt und weißlichgrau; an der Luft aber oder von der Wurzel losgelöst, erschlaffen sie bald und verfärben sich ins Braune. Gegen die tieferen Partien der Wurzel und deren Aeste nimmt die Knöllchenbildung ab. Besonders reichlich treten sie nur in der oberen Nährschicht und in dieser wieder reichlicher an den jüngeren Teilen als an den älteren stärkeren Wurzelteilen auf, was wohl mit dem Vorhandensein der Wurzelhaare zusammenhängt. Die Knöllchen sind zumeist seitenständig; die endständigen scheinen die Längswachstumstätigkeit der Wurzelhaube zum mindesten für die Dauer ihres Bestandes abzuschließen. Ein Wurzelstrang mit den Knöllchen wird nach einer Photographie abgebildet. Die mikroskopische Untersuchung der Knöllchen ergab den *Bacillus radicicola* Beyer., des eigentlichen Vermittlers der stickstoffwerbenden Tätigkeit der Leguminosen. Auch die sogenannten Bakteroiden waren in zahlreichen Klümpchen nachweisbar. Prof. Schweder an der höheren Forstlehranstalt zu Mährisch-Weißkirchen prüfte die Bodenproben aus den oben erwähnten 2 Versuchsfeldern und konnte ziffernmäßig eine Bereicherung des Bodens an Stickstoffverbindungen durch das *Spartium* nachweisen. 2) Zahlreiche Untersuchungen von Forstpraktikern haben gezeigt,

daß auf ärmeren Orten das Gedeihen der Forstkulturen durch ein bedeutendes Defizit an Stickstoff aufgehalten wird. Da kommt die Stickstoff-bereichernde Tätigkeit des *Spartium* durch die Knöllchenbakterien den Forstleuten zugute. 3) Die äußere und auch die physiologische Bodenbeschaffenheit des Waldes erfährt durch die Anwesenheit der Besenpfrieme eine günstige Veränderung. Auf diesen Punkt brauchen wir hier natürlich nicht einzugehen. *Spartium scoparium* ist also eine Pflanze, welche eine Hebung der Bodenchemie und auch der Bodenphysik hervorbringt; sie wird in der Zukunft als Schutz und Vorbau in den Nadelholzkulturen und namentlich bei der Aufforstung dürrtöchter Böden mit der Fichte eine große Rolle spielen. Auf diesen Punkt wissenschaftlich das erste Mal hingewiesen zu haben, bleibt unstreitig das Verdienst des Verfassers.

Mit Spannung wird der Bakteriologe und mehr noch der Forstmann den weiteren Arbeiten entgegensehen können, die sowohl vom Verf. als auch von den Mitgliedern des Lehrkörpers der höheren Forstlehranstalt in Mährisch-Weißkirchen in Angriff genommen worden sind und über die hier von Zeit zu Zeit passend referiert werden wird. Matouschek (Reichenberg i. B.).

Schorler, B., Beiträge zur Verbreitung des Moschuspilzes. (Abhandlungen der naturw. Ges. Isis in Dresden. 1903. Heft I.)

Kürzlich hat Glück in Englers Bot. Jahrbüchern für Systematik und Pflanzengeogr. Bd. XXXI. 1902. p. 495—515. ausführlich seine Untersuchungen über den Moschuspilz veröffentlicht, dessen Schlauchfruchtform er entdeckt hat. Die frühere Literatur ist Glück dabei nur zum Teil bekannt gewesen. Verf. weist bei Zusammenstellung der Fundorte des Pilzes (der meines Erachtens nicht *Nectria moschata*, sondern *Nectria aquaeductum* (Rdlk.) heißen muß, wie ich mehrfach an anderen Orten dartat), darauf hin, daß das Vorkommen des Pilzes in Baumflüssen vom Ref. zuerst 1891 und dann mehrfach konstatiert worden ist (erst viel später von Glück) und daß Ref. solche Flüsse geradezu als Moschusflüsse bezeichnet hat. Weiter hat Verf. das von Glück gleichfalls übersehene Vorkommen des Pilzes im Plankton weiter bestätigt. Ref. hatte den Moschuspilz 1889 als regulären Bestandteil des Limnoplanktons der Plöner Seen erkannt. Verf. fand denselben neuerlich im Plankton des Moritzburger Großteiches, wo er gleichfalls in Form zarter, meist rechtwinklig verzweigter Fäden mit zugespitzten Enden, kleine Flöckchen darstellend, auftrat. Er fand ihn sodann in den Kühlröhren einer Spritfabrik in der Nähe von Dresden in gallertigen Knorpelmassen die bei Kartoffelkultur die charakteristischen, hahnenkammartigen Bildungen mit Sichelkonidien und intensivem Moschusgeruch ergaben, zugleich mit *Beggiatoa leptomitiformis* Trev. und einem Infusor (*Colpidium Colpoda*). Die bis $\frac{1}{2}$ cm dicken Gallertkrusten verstopften die Oeffnungen und erschwerten die Wasserzirkulation, so daß die Abkühlung verlangsamt und die

Arbeitsleistung beeinträchtigt wurde. Zur Zeit der üppigsten Wucherung mußte spätestens alle 4 Wochen eine gründliche Reinigung der Apparate vorgenommen werden. Der Betrieb wurde hierdurch gestört und Geruchsbelästigungen machten sich ständig bemerkbar; besonders klagten die Arbeiter, welche die Beseitigung der Gallertkrusten vorzunehmen hatten, über solche, sowie über Brechreiz. Das Wasser wurde durch Dampfmaschine aus einem neuen Brunnen im Hofe der Fabrik zugeführt. Das aus diesem Brunnen zum Wohnhaus führende Rohr war durch Flocken von *Beggiatoa leptomitiformis*, *Zoogloea ramigera*, *Cladothrix dichotoma*, *Vorticella microstoma*(?) verunreinigt, so daß das Wasser erst filtriert werden mußte, den Moschuspilz enthielt es aber nicht und blieb die Ursache seines Hervorkommens in der Fabrik unaufgeklärt. In den Abwässern findet sich gleichfalls der Moschuspilz. Das von Winnacker 1883 aus den Rinnsteinen der Stadt Göttingen beschriebene *Fusarium pulvinatum* ist zweifellos *Nectria aquaeductum*. Ob auch die Angaben von Bandmann Ueber die Pilzvegetation in den Breslauer Kanalwässern (72. Jahresber. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur. 1894.) hierher gehören, bleibt dahingestellt. Bandmann fand einen Pilz, den er als *Fusisporium Solani* Mart. bestimmte. Glück meint nun, daß eine Verwechselung mit *Fusarium aquaeductum* vorliege; dagegen bezeichnet Mey das *Fusisporium Solani* gerade als fast regelmäßigen Bestandteil der Kanalwässer, das auch auf der Hautdecke der Wasserproben erscheint. Eine nähere Untersuchung, ob beide Species in den Abwässern vorkommen, steht noch aus.

Daß der Moschuspilz auch in verschmutzten Flußläufen mitten unter anderen Abwässerpilzen vorkommt, fand Verf. bei Untersuchung der Röder oberhalb Neusaathain bei Elsterwerda. Das Flußwasser wird hier durch die Abgänge einer Cellulosefabrik verschmutzt, so daß sich die Vegetation der Abwässerpilze üppig entwickelt. Von den entnommenen Proben enthielt die erste ausgebreitete Flocken und Zotten des *Leptomitius lacteus* reichlich mit *Cladothrix dichotoma* durchsetzt und von ziegelroter Farbe, alle Pilzfäden besetzt und verhüllt von *Leptothrix parasitica*. Die zweite Probeflasche enthielt schleimige, graue, braune oder rote Lappen von $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ cm Dicke, die sich als *Fusarium aquaeductum* entpuppten. Daß auch das *Fusarium* in einzelnen Parteen die ziegelrote Farbe der *Leptomitius*-Flocken zeigte, deutete auf gemeinsame Ursache. Rote Schwefelbakterien waren nicht zugegen. Ende April war die rote Farbe beim *Fusarium* entschieden zurückgegangen, während sie an der *Leptomitius*-Vegetation eher zugenommen hatte. In beiden Fällen verschwand sie rasch beim Abtöten der Proben mit Formalin. Weitere Untersuchungen über die Herkunft der Proben führten den Verf. zu der Ansicht, daß das Vorkommen des Moschuspilzes in den Abwässern zur weiteren Charakterisierung der einzelnen Parteen der Verschmutzungszone und zur Beurteilung ihrer Rein-

heit von Wichtigkeit sei. *Sphaerotilus* und *Fusarium* schließen sich aus, aber auch die *Leptomit*-Zone beherbergt den letzteren nicht überall. Er bedarf der organischen Substanz nur in geringem Maße, wie sein Auftreten im Plankton uns in Wasserleitungen zeigt. Dafür ist aber sein Sauerstoffbedürfnis größer. Er kommt daher in Partien der Abwässer vor, die sauerstoffreicher sind, d. h. an Stellen, wo die Selbstreinigung schon so weit vorgeschritten ist, daß der Verwesungsprozeß nicht mehr den vorhandenen Sauerstoff verbraucht. Das Auftreten des Moschuspilzes dürfte daher mit dem Wiederauftreten der grünen Algen zusammenfallen.

Ludwig (Greiz).

Falek, R. Die Kultur der Oidien und ihre Rückführung in die höhere Fruchtform bei den Basidiomyceten. (Beitr. zur Biol. d. Pflanzen. VIII. 3. 1902. p. 307—46. Mit Taf. 12—17.)

Verf. suchte folgende Fragen zu beantworten: 1) Sind die bis jetzt bekannt gewordenen Oidien-Formen der höheren Pilze, welche sich in fortlaufender Kultur ohne Abschwächung erhalten lassen, selbständig gewordene Entwicklungsglieder, die ebenso wie *O. lactis* sich nie wieder in die höheren Fruchtformen zurückführen lassen, oder sind sie es nur vorübergehend und gehen in die höhere Pilzform zurück, sobald die hierfür nötigen Bedingungen eingetreten sind? 2) Läßt sich auch *O. lactis* nach einer Methode, welche die Ueberführung dieser Oidien gestattet, in eine höhere Fruchtform überführen? 3) Mit welcher der bekannt gewordenen Oidien-Formen hat *O. lactis* die größte Ähnlichkeit und an welcher Stelle im Systeme ist der Pilz unterzubringen, solange seine höhere Fruchtform noch nicht gefunden ist?

Sämtliche Kulturen wurden im Brefeldschen Institute ausgeführt und zwar mit Sporenaussaaten folgender Pilze:

1) *Phlebia merismoides* Fr. Die Oidien bildeten sich in bekannter Weise in Sandkulturen. Nach 14 Monaten entwickelten sich aus den Mycelien kleine rotgefärbte Fruchtkörperanlagen; nach 19 Monaten traten auf Kirschbaumzweigstücken entwickelte Fruchtkörper auf.

2) Bei *Coprinus lagopus*, *C. sterquilinus*, *Psilocybe spadicea*, *Ps. coprophila*, *Chalymotta campanulata* wurden aus Sporenaussaaten Fruchtkörper erzogen. Die Sporen von *Psalliota campestris* konnten nicht zum Keimen gebracht werden.

3) Von *Hypholoma fasciculare* erschienen 13 Monate nach der Aussaat der Oidien die ersten Fruchtkörper; bei *Pholiota mutabilis* sind dieselben noch nicht entwickelt. Die Kulturen beider Oidien unterscheiden sich nicht. Einen weit höheren Grad der Differenzierung hat aber die Oidienfruktifikation bei *Collybia velutipes* erreicht. Auf Brotstücken wurden schon 2¹/₂ Monate nach der Aussaat ganze Fruchtkörperfamilien erzielt.

4) Aus den Oidienkolonien von *Collybia tuberosa* ent-

wickelte sich ein dichter Ueberzug langer, weißer, schnallenführender Mycelien, welche zu Basidiomycelien auswachsen. Aus diesen werden die Sklerotien gebildet.

5) In gleicher Weise ausgeführte Kulturen von *Oidium lactis* hatten kein positives Ergebnis.

Aus den Ergebnissen der mit *Endomyces*-Arten angestellten Kulturen schließt Verf., daß *Oidium lactis* den *Endomyces*-Formen anzureihen und hier im System unterzubringen ist. Vielleicht aber ergeben spätere Befunde doch noch eine andere Stellung des Pilzes.

Die Tafeln illustrieren gut in zahlreichen Figuren die Kultur-
ergebnisse. H. Sydow (Berlin).

Bubák, Fr., Zwei neue, Monocotylen bewohnende Pilze.
(Annales Mycologici. Vol. I. 1903. p. 255—256.)

Entyloma Dietelianum n. sp. bildet auf den Blättern von *Ambrosinia Bassii* auf Sadinien kleine, rotbraune, fast tremelloide Pusteln, welche später schwarz werden und dauernd von der Epidermis bedeckt bleiben.

Physoderma Debeauxii n. sp. lebt auf *Scilla maritima* in Algier und ruft auf den Blättern der Pflanze grosse, elliptische oder längliche, 1—3 cm lange, 2—2 cm breite, gelbliche Flecken, welche oftmals zusammenfließen, hervor. In diesen Flecken liegen die flachen durch die Epidermis grau durchschimmernden Sporenlager. Die Sporen sind 15—33 μ im Durchmesser und liegen zu wenigen in den Mesophyllzellen. H. Sydow (Berlin).

Kohl, F. G., Untersuchungen über die von *Stilbella flavida* hervorgerufene Kaffeekrankheit. (Tropenpflanzer. 1903. Beihefte. Bd. IV. p. 61—77.)

Im Jahre 1901 ist der Verf. an der Hand eines außerordentlich reichhaltigen Materiales bestrebt gewesen, die in den Fincas Centralamerikas in geradezu verheerender Weise auftretende *Stilbella*-Krankheit der Kaffeebäume eingehender zu untersuchen, indem er zunächst die Entwicklung und die morphologischen Verhältnisse des Pilzes studierte, weiterhin die Art seiner Verbreitung ermittelte und schließlich auch Infektionsversuche an Kaffeepflanzen anstellte. Der neuerdings vorliegende Bericht gibt nun in aller Kürze die gewonnenen Resultate wieder; ausführlicher sollen dieselben erst später bekannt gegeben werden.

Es muß zunächst betont werden, daß auch die an den Verf. eingesandten Unkrautpflanzen, Schattenpflanzen u. a. m. aufs sorgfältigste auf *Stilbella* hin geprüft und von ihnen verschiedene als regelmäßige Träger dieses Pilzes erkannt wurden.

Ueber die Entwicklung des *Stilbum flavidum* Cooke ist nun nach allen bisher vorliegenden Angaben nach der Ansicht des Verf. weder die Stellung desselben im Systeme, noch auch die Frage entschieden, ob andere häufiger in Gesellschaft dieses Pilzes auftretende Pilzformen mit in seinen Entwicklungsgang einzubeziehen

sind. Die diesbezüglichen Ansichten (Cooke, Ad. Tonduz, Spegazzini, Patouillard, Massée, Delacroix u. a.) gehen sehr weit auseinander; Verfasser hat sich deshalb an einem sehr reichhaltigen Materiale über die Stichhaltigkeit der einzelnen abweichenden Auffassungen zu orientieren versucht und ist schließlich zu folgender Anschauung gelangt, die er des näheren auch zu begründen sucht:

1) *Sphaerella coffeicola* Cooke, häufig mit *Stilbum flavidum* Cooke vergesellschaftet, hat nichts mit letzterem zu tun; ihr gemeinsames Vorkommen ist nur ein zufälliges. In manchen Verbreitungsbezirken trifft man den ersten Pilz niemals auf den *Stilbum*-Flecken an, und umgekehrt hat Verf. häufig *Sphaerella*-Infektionen gefunden, ohne daß *Stilbum* zugegen war. Endlich ist es ihm gelungen, die Fruchträger von *Stilbum* zu erzielen, ohne daß ein *Perithecium*stadium vom Pilze durchlaufen worden wäre.

2) Es liegt ferner nach dem Verfasser kein Grund vor, die Pykniden *Phyllosticta coffeicola* Speg. und den *Pyrenomyceten* *Laestadia coffeicola* in den Entwicklungsgang von *Stilbum* einzubeziehen. Ebensowenig steht *Cercospora coffeicola* Berkeley et Cooke in Beziehung zu *Stilbum flavidum*.

3) Da Spegazzini die Sporen von *Stilbum flavidum* niemals gesehen hat (ebensowenig wie Patouillard, Massée und Delacroix), also auch nicht ihre Entwicklung von einer Basidie, so war er wohl auch keineswegs berechtigt, *Stilbum flavidum* Cooke unter dem Namen *Pistillaria flava* Speg. für einen Basidiomyceten zu erklären.

Nach langwierigen vergeblichen Versuchen ist es dem Verf. auch gelungen, Reinkulturen von *Stilbum flavidum* zu erhalten. Das Mycel wuchert besonders auf Peptonnährgelatine üppig und erzeugt prachtvolle scheibenförmige Rasen. Zur Bildung von Fruchtkörpern kam es jedoch auf diesem Nährboden niemals.

Der Verfasser sah sich also gezwungen, die Fruchtkörper an übersandtem Materiale zu untersuchen; es konnten jedoch weder in den endständigen kugeligen Köpfchen, noch am Stiele des Fruchtkörpers Sporen gefunden werden. Auch hielt es Verf. für zu gewagt, sie auf der Oberfläche der vom Pilze erzeugten Flecke aufzusuchen (8 Sporenformen konnten festgestellt werden), weil alle möglichen Sporen nebeneinander liegend angetroffen wurden. Endlich konnte jedoch an Schnitten durch das Köpfchen des Pilzes deutlich erkannt werden, daß einmal im Umfang desselben die Hyphenenden paraphysenartig dicht aneinanderliegend angeordnet sind, und dann auch an den Hyphenenden nacheinander Zellen verschiedener Form und wechselnder Dimensionen abgeschnürt werden. Die Frage, ob man diese Zellen als Basidiosporen und ihre Erzeuger als Basidien bezeichnen soll, glaubt Verf. ganz entschieden mit nein beantworten zu müssen, zumal man ja von einer Basidiospore eine konstante Form und von einer Basidie die Produktion von

Sterigmen und an diesen eine einmalige simultane Ausbildung von Sporen verlange.

Bei *Stilbum flavidum* sei jedoch keine dieser Voraussetzungen erfüllt; Verf. betrachtet daher die Fruchtkörper dieses Pilzes als ein *Coremium*, als einen Konidienträgerstand und räumt dem Pilze weiterhin den Platz ein, welchen man ihm vorläufig im Englerschen System angewiesen hatte.

Nach dem Verf. soll also *Stilbum* ein *Hyphomycet* sein, welcher ausschließlich und succedan Konidiensporen produziert.

Da nun aber *Stilbum vulgare*, der Typus der alten Todeschen Gattung ein *Basidiomycet* ist, so war nach dem Verf. ein neuer Name einzuführen und die Pilzgattung, deren Arten sich ähnlich wie *Stilbum flavidum* verhalten, wurde von Lindau *Stilbella* getauft.

Nach dem Verf. soll nun ganz zweifellos *Stilbella flava*, der Erreger der so verheerend auftretenden Kaffeekrankheit zu der Sektion *Eriostilbella* gehören, wenn auch die Haare der Stielchen nur schwach entwickelt seien.

Es werden alsdann des näheren die Konidien, die Träger derselben, sowie das sog. *Coremium*, die eventuelle Infektion der Kaffeepflanzen, durch diese Gebilde besprochen, wobei Verf. zu dem Schlusse kommt, daß es auf Grund einer sorgfältigen Untersuchung von Flecken auf Blatt und Frucht mit aller Sicherheit sich herausgestellt hat, daß die Infektion stets nur durch das ganze Köpfchen des *Coremiums* sich vollzieht, nicht aber schon durch die einzelnen Konidien, soweit wenigstens die bisherigen Untersuchungen die Infektionsbedingungen haben feststellen lassen.

Ueberhaupt hat der Verfasser bei seinen umfangreichen Untersuchungen den Eindruck gewonnen, als ob sich *Stilbella flava* erst neuerdings auf die Kaffeepflanze geworfen habe und ihre Konidien vorläufig noch nicht die Fähigkeiten erlangt hätten, auf *Coffea* zu keimen, als ob die Infektion der letzteren nur mit Hilfe des *Coremium*-Köpfchens möglich wäre.

Es wäre demnach mehr als wahrscheinlich, daß der eigentliche Wirt eine andere Pflanze ist (oder es sind deren möglicherweise auch mehrere).

Weiterhin werden die Infektionsbedingungen sowie der Verlauf der Infektion besprochen. Dabei mag vielleicht nicht unerwähnt bleiben, daß nach außen hin keine Absonderungen an den entstehenden Flecken der Blätter konstatiert werden konnten, wohl aber kommt es auf denen der Früchte häufig zu einer auffallenden Abscheidung von Kalk. (Weißer Fleck durch diese Kalkabsonderung; darin schwarze Punkte, Perithezien; cf. Taf. II, Fig. 4.)

Der Verf. war übrigens anfangs geneigt, dem von den extra nuptialen Nektarien der Kaffeelblätter abgesonderten Zucker eine besondere, wenn nicht gar eine wesentliche Rolle bei der Pilzinfektion zuzuschreiben; durch genauere Untersuchungen in dieser Richtung ist er jedoch von dieser Annahme wieder abgekommen. Obendrein sollen die Zuckermengen bei chemischen Untersuchungen

sich als so minimale erwiesen haben, daß schon aus diesem Grunde nach dem Verf. deren Bedeutung eine andere sein dürfte.

In Bezug auf die Frage, wie man der *Stilbella*-Epidemie am besten zu steuern vermag, mußte es naturgemäß von besonderer Wichtigkeit sein, feststellen zu können, ob der Pilz auch auf anderen in der Umgebung wachsenden oder epiphytisch auf diesen vorkommenden Pflanzen gedeihen könne. Es sind daher auch die mannigfachsten Gewächse daraufhin untersucht worden, von denen auch eine Reihe als Ueberträger des Pilzes und demnach für die Kaffeepflanzen als gefährlich erkannt wurden. (Näheres siehe im Original.)

Schließlich werden verschiedene indirekte und direkte Maßregeln, welche zur Bekämpfung und Beseitigung der *Stilbella*-Epidemie in den Kaffeepflanzungen dienen können, ausführlicher erörtert. Es sind dies in Kürze folgende:

1) Entfernung und Vernichtung aller derjenigen Pflanzenteile, welche von den Kaffeepflanzen abgefallen sind.

2) Die Vernichtung aller derjenigen Pflanzen, welche als Ueberträger von *Stilbella flavida* dienen können.

3) Stärkung der Kaffeepflanzen: a) durch eine zweckmäßige Ernährung bzw. Düngung (wobei unter anderem sehr wichtig ein genügender Kalkvorrat ist); b) durch ausreichende Entwässerung der besonders feuchten Bodenlagen; c) durch Lüftung und Steigerung der Belichtung der oberirdischen Kaffeepflanzen durch möglichst weitgehende Entfernung der Schattenbäume und des Unkrauts durch zweckmäßiges Ausschneiden der Pflanzen, sowie durch Ausschlagen einzelner Kaffeepflanzen bei zu dichtem Stande derselben (2,5–3 m).

4) Direkte Bekämpfung des Pilzes durch sogenannte fungicide Lösungen (wie beispielsweise neutrale Bordeaux-Brühe mit 2 Proz. CuSO_4 ; gezuckerte Bordeauxbrühe; Schwefelcalciumlösung).

In Bezug auf die Zeit, wann man die einzelnen Bekämpfungsmethoden am besten in Anwendung bringt, ist naturgemäß der ganze Verlauf der Entwicklung der Kaffeepflanze maßgebend; insbesondere müssen auch für die verschiedensten Plantagen die klimatischen Verhältnisse sehr sorgfältig berücksichtigt werden. Näheres ist im Originale einzusehen. Heinze (Halle a. S.)

Hennings, P., Fungi S. Paulenses a cl. Puttemans collecti II. (Hedwigia. 1902. p. 295.)

Bereits in demselben Jahrgange der Hedwigia hatte Verf. eine Serie von Pilzen veröffentlicht, die ihm von Puttemans zugegangen waren und aus dem Staate San Paulo in Brasilien stammten. Auch in dieser Veröffentlichung sind wieder viele Arten zum erstenmal beschrieben. Auf die bereits bekannten Formen soll hier nicht eingegangen werden, dagegen mögen die neuen Arten, welche auf Pflanzen sich finden, genannt sein.

Puccinia cestri Diet. et P. Henn. auf *Cestrum*blättern, *P. acanthospermi* P. Henn. auf Blättern von *Acanthospermum*; *Uredo paulensis*

P. Henn. auf Blättern von *Calamagrostis*, *Dimerosporium gnaphalii* P. Henn. auf Bl. von *Gnaphalium*; *D. paulense* P. Henn. auf Bl. von *Baccharis*, *D. cantareirense* P. Henn. auf Bl. einer *Myrsinee*, *Limacinia aurantii* P. Henn. auf Bl. von *Citrus aurantium*, *Capnodiopsis mirabilis* P. Henn. (nov. gen. *Capnodiacearum*), *Asterina hyphaster* P. Henn. auf Bl. von *Malvastrum*, *Microthyrium cantareirense* P. Henn. auf Bl. einer *Myrtacee*, *Seynesia melastomataceae* P. Henn. auf Bl. einer *Melastoma*, *S. Hammariana* P. Henn. auf Bl. von *Coccoloba*, *Gibberella tritici* P. Henn. auf Spelzen und Grannen von *Triticum spelta*, *Mycosphaerella Puttemansii* P. Henn. auf Bl. von *Plantago*, *Sphaerulina maydis* P. Henn. auf Bl. von Mais, *Physalospora escalloniae* P. Henn. auf Bl. von *Escallonia chlorophylla*, *Phyllachora gaylussaciae* P. Henn. auf Bl. von *Gaylussacia*, *Blitrydium subtropicum* Wint. var. *microspermum* P. Henn. auf H. einer *Melastomataceae*, *Leptopeziza pyrina* P. Henn. an Zweigen von *Pirus communis*, *Stictis maydis* P. Henn. auf Bl. von Mais, *Pseudopeziza cantareirensis* auf Bl. einer *Melastomataceae*, *Phyllosticta dioscoreae daemona* P. Henn. auf Bl. von *Dioscorea daemona*, *P. sapindi* P. Henn. auf Bl. von *Sapindus Saponaria*, *P. rubi* P. Henn. auf *Rubus*, *P. baehinicola* P. Henn. auf Bl. von *Bauhinia*, *P. oroxylonis* P. Henn. auf Bl. von *Oroxylon indicum*, *Ascochyta coffeae* P. Henn. auf Kaffeeblättern, *A. alstoniae* P. Henn. auf Bl. von *Alstonia scholaris*, *Aschersonia flavocitrina* P. Henn. auf Bl. von *Psidium*, *Lasmenia machaerii* P. Henn. auf Bl. von *Machaerium lanatum*, *Excipula Schomburgkiae* P. Henn. auf Bl. von *Schomburgkia*, *Gloeosporium aracearum* P. Henn. auf Bl. von *Caladium* u. *Philodendron bipinnatifidum*, *G. ligustri* P. Henn. auf Bl. von *Ligustrum vulgare*, *Cercospora asclepiadis* P. Henn. auf Bl. von *Asclepias*, *C. cajani* P. Henn. auf Bl. von *Cajanus indicus*, *C. filicum* P. Henn. auf Bl. von *Nephrodium*, *Pseudobeltramia cedrelae* P. Henn. (nov. gen. *Dematiacearum*), *Helicoma bambusae* P. Henn. auf *Bambusa*, *Macrosporium eucalypti* P. Henn. auf *Eucalyptus pulverulentus*, *Epicoccum microscopicum* P. Henn. auf Grasblättern, *E. ligustri* P. Henn. auf Bl. von *Ligustrum vulgare*, *E. eucalypti* P. Henn. auf Bl. von *Eucalyptus pulverulentus*.

Lindau (Berlin).

Baudisch, Fr., Ueber *Dendroctonus micans* Kug. (Centralblatt f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXIX. 1903. p. 151—152.)

In dem auf ca. 340 m Seehöhe gelegenen Revier Trschitz war ein einzelner Stamm des 55-jährigen Fichtenrevieres stark vom Hallimasch befallen, während im November unter der Rinde zahlreiche Larven und Imagines des großen Fichtenbastkäfers (*Dendroctonus micans*) getroffen wurden. Da sie sich nur in dem einzigen pilzkranken Baume fanden, auch die Art sonst im Revier nur in sehr geringer Menge aufgetreten sein mochte, wird ihr Vorhandensein dort als rein sekundäre Erscheinung aufzufassen sein. Das gleichzeitige Vorkommen von Larven und Käfern will Verf. als zeitlichen Zusammenfall zweier Generationen auffassen, eine Ansicht, die ja bereits von Glück begründet wurde und in Judeich und Nitsches Lehrbuch Aufnahme gefunden hat.

Jacobi (Tharandt).

Bergmiller, F., *Dendroctonus micans* und *Rhizophagus grandis*. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jahrg. XXIX. 1903. p. 252—256.)

Verf. ergänzt den Artikel von Baudisch über *Dendroctonus micans* (ebend. p. 151) durch Anführung zahlreicher

eigener Beobachtungen über die Entwicklungsweise des Käfers. Zunächst stellt er fest, daß die Art auch in der Ebene (z. B. Main, württembergisches Alluvialgebiet und Donau) heimisch ist und sich immer mehr auszubreiten scheint. Auch Bergmiller spricht sich dafür aus, daß die Entwicklung in zwei nebeneinander bestehenden Generationen vor sich geht. Die eine stammt von den als Käfer überwinterten Individuen und entwickelt sich von Juni bis September, die andere wird als Ei im Juli, teilweise auch im August abgelegt und überwintert als Larven von verschiedener Größe. Der Fraß der Käfer selbst ist nicht etwa auf eine durch ungünstige Witterung hervorgebrachte Entwicklungsverzögerung zu schieben, sondern findet vielfach familienweise von der Wiege aus oder nach Anflug eines neuen Baumes statt. Unter der Rinde dürfte auch die Begattung geschehen, da Verf. einmal ein Pärchen in copula fand; Hochzeitsflug beobachtete er ebensowenig wie die Vorgänger. Fraßstellen wurden nicht ausschließlich an unteren Stammartieen gefunden, sondern bis 8 m über dem Boden. Auch Bergmiller stellte häufig den Fraß als sekundäre Schädigung fest; so gingen dem Anfluge voraus: Rotfäule, gewaltsame Verletzungen, Zwillingsverwachsung, von Borkenkäfern *typographus*, *poligraphus*, *chalcographus*, *pusillus*, während nach *micans* die Bockkäfer *Tetropium* und *Rhagium* fraßen. Fichtenbestände mit Buchenunterbau wurden von *micans* nicht angefliegen, ebenso wenig die von hohen Stauden der Tollkirsche umgebenen Stämme. Als wichtigsten Feind dieses Bastkäfers lernte Verf. den als selten geltenden Nitiduliden *Rhizophagus grandis* kennen; er trat so häufig und so stetig als verhängnisvoller Begleiter des *micans* auf, daß ihm unbedingt eine große forstliche Bedeutung zugeschrieben werden muß. Nach des Verf. Beobachtungen überwintert er gewöhnlich als Käfer (selten als Larve), dringt in die Familiengänge des Borkenkäfers ein, ist im August als ausgewachsene Larve, im September als fertiges Insekt zu finden. Die heranwachsenden Larven verschonen kein Altersstadium des *D. micans*, verzehren vielmehr einzeln oder gemeinschaftlich die Eier, Larven jeder Größe, Puppen und noch weichhäutigen Käfer und setzen diese Tätigkeit auch als Imagines fort. Von den Borkenkäferlarven und jungen Käfern bleiben nur die harten Chitinteile übrig, und ganze Familien werden vollständig vernichtet gefunden. Jacobi (Tharandt).

Sajó, Karl, Neues über die Apfelmotte. (Oesterreichisches Landwirtschaftliches Wochenblatt. 1903. p. 341.)

Gegen die Apfelmotte (*Carpocapsa pomonana*) hat man in Amerika bisher von Arsensalzen vornehmlich das „Pariser (Schweinfurter) Grün“ und „London purple“ und zwar mit vorzüglichem Erfolg in Anwendung gebracht. Nach den bisherigen Beobachtungen ist in den atlantischen Staaten größtenteils die erste Generation der Apfelmotte herrschend, welche die Äpfel wundstichig macht, während die zweite Generation durch energische natürliche Freunde (Insekten, Pilze) in Schranken gehalten zu sein

scheint. Ungünstige Resultate mit den obigen Arsensalzen hat man in den westlichen, pazifischen Staaten erhalten und scheinen weitere Versuche die Verhältnisse jetzt geklärt zu haben. Man wendet nämlich hierarsensaures Blei an, welches vor der Verwendung durch Mischen der Lösungen von essigsaurem Blei (Bleizucker) und arsensaurem Natron hergestellt wird. Im allgemeinen nimmt man auf 1 Gewichtsteil arsensauren Natrons $2\frac{1}{2}$ Gewichtsteile Bleizucker. Lloyd verwendete eine stärkere und eine schwächere Mischung und war erstere doppelt so stark als letztere. Die erzielten Resultate waren vorzügliche und diesmal zeigte arsensaures Blei eine bessere Wirkung als die obigen beiden Arsenpräparate. Nach den Versuchen von Webster scheint die Apfelmotte nicht alle Apfelsorten in gleichem Maße anzugreifen; im übrigen hat auch dieser Forscher mit arsensaurem Blei vorzügliche Resultate erzielt. Verf. plaidiert daher, auch in Europa Versuche mit diesem Mittel anzustellen und sind Vergiftungen nicht zu befürchten, da gegen die Apfelmotte nur sehr geringe Mengen des Mittels anzuwenden sind. Nach den Versuchen von Cordley im Jahre 1898 hat in Oregon nur die zweite Raupengeneration der Apfelmotte eine Rolle gespielt, während die erste hingegen ganz ohne Bedeutung war. Wahrscheinlich gibt es aber auch Gebiete, in welchen die Frühjahrs- und Sommerbrut in gleicher Weise herrschen; doch werden aber auch hier, wie in dem früheren Falle, die Verhältnisse nicht in allen Jahren dieselben sein. In der Nähe von Budapest grassiert meist die zweite Brut am fürchterlichsten und wird sich die Sache in allen Gegenden mit trockenen, heißen Sommern genau so verhalten. Wenn sich die vorzüglichen Eigenschaften des arsensauren Bleies allgemein bewähren, so wäre dieses Mittel gewiß dort am meisten zu schätzen, wo es gilt, besonders die Spätbrut zu bekämpfen, weil dann die vollwüchsigen Aepfel schon glatt und glänzend sind, daher eines besser haftenden Mittels bedürfen, wie dies eben das arsensaure Blei darstellt. Bei der Verwendung des Präparates ist allerdings große Vorsicht am Platze, nachdem die zur Herstellung dienenden beiden Salze weiß sind und daher leicht in fester und flüssiger Form Anlaß zu verhängnisvollen Verwechslungen geben können.

Stift (Wien).

Richter von Binnenthal, Fr., Die Rosenschädlinge aus dem Tierreiche, deren wirksame Abwehr und Bekämpfung. Ein Ratgeber für die gärtnerische Praxis, herausgegeben vom Verein Deutscher Rosenfreunde. 8°. X, 392 pp. 50 Abbildgn. Stuttgart (E. Ulmer) 1903.

Dieses Buch entspricht nicht ganz seinem bescheidenen Titel; es ist in Wahrheit ein wissenschaftliches Handbuch bester Art. Die tierischen Rosenfeinde sind von jeher ein Schmerzenskind der Phytopathologie gewesen, und alle seitherigen Versuche, sie wissenschaftlich und praktisch zu behandeln, verrieten vorwiegend nur den guten Willen. Erst R. v. B. ist es gelungen, diesen Willen auch in eine vollgültige Tat umzusetzen. Es ist namentlich eine geradezu

ungewohnte Sorgfalt und Genauigkeit, die sich selbst auf Schreibweise und Aussprache der wissenschaftlichen Namen erstreckt, die dem Buche ihr Gepräge aufdrückt. Aber neben umfassendster Literaturbenutzung verrät der Verf. auch ausgedehnte praktische Erfahrung sowohl betr. der tierischen Schädlinge als ihrer Bekämpfung, als auch der Pflege der Rose, wie er denn auch nach eigenem Bekenntnis bereits 25 Jahre Rosenzüchter ist. Das Buch gehört zu den besten, die wir in der deutschen Phytopathologie haben und kann in vieler Beziehung mit Judeich-Nitsches Lehrbuch der mitteleuropäischen Forstinsektenkunde verglichen werden. Für die Praxis dürfte sich vielleicht ein kürzerer Auszug empfehlen.
Reh (Hamburg).

Sorauer, Paul, Ueber Frostbeschädigungen am Getreide und damit in Verbindung stehende Pilzkrankheiten.
(Landw. Jahrbücher. XXXII. 1903. p. 1—68.)

Die eingehenden, durch den ausgedehnten Blachfrost im Winter 1900/01 wesentlich begünstigten Untersuchungen des Verf.s weisen darauf hin, daß die Frostfrage bei den auf Parasiten zurückgeführten Beschädigungen junger Saaten eine viel größere Bedeutung verdient als ihr bisher zu teil geworden ist. Es stellte sich heraus,

1) daß der Frost ganz bestimmte Schädigungsformen erzeugt, die mit den an den nachstehenden Pilzkrankheiten beobachteten Merkmalen übereinstimmen;

2) daß diese Gewebebeschädigungen oftmals allein, also ohne Pilzentwicklung, auftreten und die Pilzansiedlung nachträglich erfolgt;

3) daß einige der fraglichen, neuerdings als absolute Parasiten behandelten Pilze am Getreide, auch am gesunden, vorhanden sind, aber auf die bereits anderweitig erkrankten Organe beschränkt bleiben, und daß auch wilde Gräser diese Parasiten beherbergen, also stets Ansteckungsherde darstellen. Die jetzt herrschende Anschauung der Bekämpfung derartiger parasitärer Krankheiten durch Abhaltung der Beschädiger von den Getreidefeldern ist also hinfällig.

Die in Frage kommenden Getreidekrankheiten werden als „Schwärze“, „Getreideblattpilze“, „Halmbrecher“ und „Halmtöter“ bezeichnet und als ihre Urheber hauptsächlich *Cladosporium herbarum*, *Alternaria*, *Ascochyta-Septoria*-Arten, sowie *Fusarium nivale* Sor. angesehen. Alle diese Pilze gehören zum dauernden Bestand eines jeden Ackers, und werden auch, wie die Untersuchung des gesündesten Saatgutes lehrt, mit einzelnen Körnern stets als Infektionsmaterial in den Acker gebracht. Sie bleiben aber belanglos, solange nicht die junge Saat durch Frost oder auch Faktoren anderer Art für die Pilzangriffe vorbereitet und schon vorher beschädigt wird. Ausschlaggebende Merkmale für die Frostbeschädigungen sind Abhebungs- und Zerklüftungserscheinungen, also in erster Linie mechanische Wirkungen, denen sich als begleitende Vorgänge Gefäßbräunungen und Membranquellungen hinzugesellen. Letztere

sind aber für Frostwirkungen nicht spezifisch, sondern treten auch bei anderen Krankheitsursachen auf. Als spezieller Fall von Frostbeschädigungen, die aber nicht die junge Saat, sondern erst den schossenden Halm betroffen haben, also Folge von Spätfrösten sind, ist „Kahlährigkeit“ aufzufassen.

Bestimmend für die Stärke der Frostbeschädigung erweist sich in erster Linie die Saatzeit. Späte Saat steigert die durch Frost veranlaßten Verluste. Gleichsinnig wirken leichter Boden, herbstliche Trockenheit, Gründüngung mit Lupinen, Ost- und Nordostwinde, während auf schwerem, wasserreichem Boden in windgeschützter Lage und bei früher Saat eine Verminderung der Frostbeschädigung erwartet werden darf. Die Ergebnisse einer ad hoc angestellten Umfrage weisen ferner noch auf den großen Wert einer wenn auch nur äußerst dürrigen Schneedecke und auf die Notwendigkeit zweckmäßiger Auswahl oder Anzucht widerstandsfähiger Sorten hin.

Beck (Tharandt).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Das chemische Versuchs- und Hefereinzucht-Laboratorium der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg. (Die Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 42. p. 495—498. 5 Fig.)

Zdravosmislav, W. M., Rapport du laboratoire de bactériologie du Zemstvo de Perm pour la période du 15 mai 1898 au 31 octobre 1901. (Arch. des sc. biol. St. Pétersbourg. T. X. 1903. N. 1. p. 54—62.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Novy, F. G., Einige Laboratoriumsapparate. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 1. p. 124—128. 3 Fig.)

Oldekop, A., Eine Modifikation des Rothberger-Schafflerschen Neutralrot-Nährbodens (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 1. p. 120—124.)

Prior, E., Die Anwendung der Hefe als Reagens in der Nahrungsmittelchemie. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Jg. VI. 1903. Heft 20. p. 916—923.)

Schüttse, Albert, Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten mittels der Agglutinine. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903. Heft 3. p. 423—437.)

Zikes, Heinrich, Ein neuer kleiner Schüttelapparat für gärungsphysiologische Arbeiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 107—108. 1 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

B. O., I microorganismi degli ortaggi consumati crudi. (L'Italia orticola. 1903. p. 47—50.)

- Bail, O.**, Die bakterientötende Kraft des Blutes. (Sitzungsber. naturw.-med. Ver. f. Böhmen. „Lotos“ in Prag. Jg. XXIII. 1903. N. 2. p. 96—100.)
- Barthel, Chr.**, Untersuchungen über die Mikroorganismen in der Stallluft, in der frisch gemolkenen Milch und im Euter der Kuh. [Schluß.] (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 42. p. 658—660.)
- Beck, G. v.**, Ueber das Vorkommen des auf der Stubenfliege lebenden *Stigmatomyces Baerii* Peyr. in Böhmen. (Sitzungsber. d. naturw.-med. Ver. f. Böhmen „Lotos“. Jg. XXII. 1903. Heft 3. p. 101—102.)
- Bekämpfung des Oidiumas. (Württemberg. Wehnbl. f. Landw. 1903. N. 33. p. 426.)
- Bonnema, A.**, Gibt es Bakterien, die freien Stickstoff assimilieren, oder ist dies ein chemischer Prozeß? (Chemiker-Ztg. Bd. XXVII. 1903. N. 14. p. 148—150.)
- Christek, W.**, Dr. Büchelers Kunsthefe ohne Milchsäuregärung. (Oesterr. landw. Wehnbl. Jg. XXIX. 1903. N. 42. p. 333—334.)
- Constantin et Lucet**, Sur un *Rhizopus* pathogène. (Bull. soc. mycol. de France. T. XIX. 1903. Fasc. 3. p. 200—215. 2 Taf.)
- van Delden, A.**, Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 3. p. 81—94. 1 Taf.)
- Eijkman, C.**, Ueber Enzyme bei Bakterien und Schimmelpilzen II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. 1903. N. 1. p. 1—3.)
- Eisenberg, Philipp**, Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 8. p. 739—764.)
- Eriksson, Jakob**, Sur l'appareil végétatif de la rouille jaune des céréales. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 15. p. 578—580.)
- Galli-Valerio, Bruno**, Notes de parasitologie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 1. p. 81—91. 4 Fig.)
- Kexel, H.**, Nitrite Bakterien der Orchideen. (Gartenwelt. 1903. p. 340—341.)
- Kollegorsky, E. et Zassouchine, O.**, De l'influence de l'alimentation hydrocarbonée de la levure sur le rapport des gaz échangés. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 95—105.)
- Kruse**, Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum *Streptococcus lanceolatus* (*Pneumoniococcus*, *Enterococcus* u. s. w.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 8. p. 737—739.)
- Kunsemüller, Friedrich**, Zur Kenntnis der polycephalen Blasenwürmer, insbesondere des *Coenurus cerebralis* Rud. und des *C. serialis* Gerv. (Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ont. d. Tiere. Bd. XVIII. 1903. Heft 4. p. 507—538. 4 Taf. u. 3 Fig.)
- Léger, L. et Duboscq, O.**, *Aggregata vagans* n. sp., grégarine gymnosporée parasite des pagures. (Arch. de zool. expér. et gén. Année 1903. Notes et Revue. N. 9. p. CXLVII—CLX. 6 Fig.)
- Lindner, P.**, Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*. (Wehnshr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 43. p. 505—506. 2 Fig.)
- Marpmann, G.**, Schmarotzende Pilze an Diatomaceen. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. VIII. 1903. Heft 1. p. 1—5. 1 Taf.)
- Nadson, G.**, Sur la phosphorescence des bactéries. (Bull. Jard. Impér. Bot. St. Pétersbourg. T. III. 1903. p. 110—124.) [Russisch.]
- , Observations sur les bactéries pourprées. (Bull. Jard. Impér. Bot. St. Pétersbourg. T. III. 1903. p. 99—110.) [Russisch.]
- Oudemans, C. A. J. A.**, Contribution à la flore Mycologique des Pays-Bas XIX. (Nederland kruidk. Arch. Ser. 3. 1903. N. 2. p. 851—929. 4 Taf.)
- Pinoy**, Nécessité d'une symbiose microbienne pour obtenir la culture des *Myxomycètes*. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 15. p. 580—581.)
- Raymann, B. und Kruis, K.**, Vorläufiger Bericht über den Kern der Bakterien. (Anzeiger Böhm. Akad. Wiss. Bd. XI. 1903. N. 5. p. 462—463.) [Tschechisch.]
- Schostakowitsch, Wl.**, Mykologische Studien. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. VIII. 1903. Heft 1. p. 5—10.)
- Shipley, Arthur E.**, On the Ento-Parasites collected by the „Skeat Expedition“ to Lower Siam and the Malay Peninsula in the Years 1899—1900. (Proc. of the zool. Soc. of London. 1903. Vol. II. P. 1. p. 145—156. 1 Taf.)
- Stafford, J.**, Two Distomes from Canadian Urodela. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. N. 8. p. 822—830. 1 Taf.)
- Stift, A.**, Neue Mitteilungen über *Eurycreon sticticalis* L. (Wiener landw. Ztg. Jg. LIII. 1903. N. 74. p. 649.)

- Tramschel, W.**, Versuche mit heterocischen Rostpilzen. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. p. 106.)
- Voglino, P.**, Sul parasitismo e lo sviluppo dello Sclerotium cepivorum Beck nell'Allium sativum L. (Staz. sperim. agr. Ital. Vol. XXXVI. 1903. p. 89—106.)
- Zacharias, O.**, Ueber die Infektionen von Synchaeta pectinata Ehrenb. mit den parasitischen Schläuchen von Ascospodium Blochmanni. (Forschungsgeb. biol. Stat. Plön. Bd. X. 1903. p. 216—222.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Félix, Jules**, Les eaux potables ou alimentaires. [Suite.] (Journ. d'hyg. Année XXIX. 1903. N. 1292. p. 87—88.)
- Grosse-Bohle, H.**, Beobachtungen auf dem Gebiete der Wasseruntersuchung. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Jg. VI. 1903. Heft 20. p. 969—975.)

Milch, Molkerei.

- Buttenberg, P.**, Ueber homogenisierte Milch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Jg. VI. 1903. Heft 20. p. 964—968.)
- Funk, Victor**, Bittere Milch und bittere Butter. (Dtsche Landwirtschafts-Ztg. Jg. XLVI. 1903. N. 43. p. 251.)
- Gasching, Pascal**, La putréfaction du lait; ses rapports avec la pathologie humaine. Thèse. Saint-Dizier. et Paris (Steinheil) 1903. 107 p. 8°.
- Jean, Jules**, Emploi des fluorures dans la fabrication du beurre. (Journ. d'hyg. Année XXIX. 1903. N. 1292. p. 84—85.)

Wein, Weinbereitung.

- Andrieu, Pierre**, Nouvelle méthode de vinification de la vendange par sulfitage et levurage. Ses applications en 1900, 1901 et en 1902 dans diverses contrées viticoles de la France. Bordeaux (Féret et fils.) 1903. 32 p. 8°. 32 cent.
- Delle, Ed.**, L'acidulation des mouts et des vins. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 81. p. 324.)
- Desmoulins, A. M.**, Fermentation incomplète. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 80. p. 319—320.)
- Grünhut, L.**, Die schweflige Säure im Wein. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Jg. VI. 1903. Heft 20. p. 927—940.)
- Holl, Friedrich**, Verwertung der sich beim Weinbau ergebenden Nebenprodukte, Weinhefe und Weintrester. (Württemberg. Wehnl. f. Landw. 1903. N. 38. p. 490—491; N. 39. p. 509—570.)
- Malvesin, Frantz**, Quelques erreurs sur la pasteurisation. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 81. p. 324.)
- Meissner**, Ueber die Herstellung alkoholfreier Traubenweine. (Württemberg. Wehnl. f. Landw. 1903. N. 40. p. 524—525.)
- , Eine Kritik der Hollschen Aufsätze: „Altes mit neuen Gesichtspunkten“ und Verwertung der sich beim Weinbau ergebenden Nebenprodukte, Weinhefe und Weintrester“. (Württemberg. Wehnl. f. Landw. 1903. N. 41. p. 539—540.)
- P.**, Weißwein aus blauen Trauben. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 42. p. 425—426. 10 Fig.)

Fleisch.

- van Ermengem**, Die pathogenen Bakterien der Fleischvergiftungen. (Handb. d. pathog. Mikroorg. hrsg. v. Kolle u. Wassermann. Jena [Fischer] 1903. Bd. I. p. 637—684. 4 Fig.)
- Hönnicke, G.**, Ueber Fleischsterilisation. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1903. Heft 2. p. 55—57.)
- Marpmann**, Ueber Fleischkonservierung. (Konserven-Ztg. Jg. 1903. N. 41. p. 457.)
- Postolka, August**, Lehrbuch der allgemeinen Fleischhygiene, nebst einer Sammlung einschlägiger Normalien für Beamte der polit. Behörden, der Gemeinden und für Richter. 42 Fig. Wien (Braumüller) 1903. XII. 544 p. gr. 8°. 12 M.

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Grosseron, T.**, La fluorure de Sodium appliqué à la conservation des denrées alimentaires. (Journ. d'hyg. Année XXIX. 1903. N. 1292. p. 85—87.)
- Lahache**, Note sur le beurre de coco épuré. (Journ. de pharm. et de chin. Année XCIV. Sér. 6. T. XVIII. 1903. N. 8. p. 338—341.)
- Meissner**, Ueber rationelle Mostbereitung aus Abfallobst. (Württemberg. Wchnbl. f. Landw. 1903. N. 39. p. 488. p. 488—489.)
- Truelle, A.**, La fabrication du cidre. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 80. p. 320.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Carlo, Ghiglione Gian**, Neue Beobachtungen über das desinfizierende Vermögen der Wandanstriche. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 1. p. 111—120.)
- Hennings, P.**, Ueber die in Gebäuden auftretenden wichtigsten holzbewohnenden Schwämme. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 5. p. 178—191.)
- Satta, Paolo**, Sul valore disinfettante dei vapori d'alcool. La Riforma med. Anno XIX. 1903. N. 40. p. 1103—1108.)
- Vogel, J. H.**, Die „Absorptionstheorie“ bei den biologischen Abwasserreinigungsverfahren. (Das Wasser. Berlin. Jg. 1903. Heft 1. p. 1—3.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Borthwick, A. W.**, Notes on the Larch disease. (Trans. R. Scottish Arboricult. Soc. Vol. XVII. 1903. P. 1. p. 37—42.)
- Boucher, W. A.**, The Peach, its disease and suggested remedies. (N. Zealand Dept. agric. divis. of biol. and pomol. 1902. p. 456—460.)
- Cooke, M. C.**, Work in the Field amongst the Fungi, with Additions to the Flora of Epping Forest. (Essex Naturalist. Vol. XIII. 1903. Pt. 1. p. 5—12.)
- Cséh**, Die Ergebnisse der in den Dominial-Weinbergen durchgeführten Versuche zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms. [Schluß.] (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXI. 1903. N. 42. p. 4474.)
- Dreyer, A.**, Mitteilungen über den Rußtau, Capnodium salicinum Mont. (Ber. Tätigkt. St. Gallen. Naturw. Ges. 1900—1901. St. Gallen 1902. p. 205—214. 3 Taf.)
- Eriksson, J.**, The Researches of Professor H. Marshal Ward on the Brown Rust on the Bromes and the Mycoplasma Hypothesis. (Ark. för Bot. atg. af k. Svenska Vetensk. Akad. I. 1903. p. 139—146.)
- Felt, Ephraim Porter**, Elm Leaf Beetle in New York State. Edition 2. (New York State Museum. Bull. N. 57. Entomol. 15. Albany 1902. p. 3—43. M. Taf.)
- , Grapevine Root Worm. (New York State Museum. Bull. N. 59. Entomol. 16. Albany 1902. p. 49—82. 6 Taf.)
- , Catalogue of injurious and beneficial insects of New York state. (New York State Museum. 54 annual Rep. of The Regents 1900. Vol. III. Museum Bulletins. N. 37. Albany 1902. p. 1—56. M. 83 Fig.)
- , 16th Report of the state entomologist 1900. (New York State Museum. 54th Annual Rep. of the Regents 1900. Vol. II. Museum Bulletins. N. 36. Albany 1902. p. 947—1063. 16 Taf.)
- , Scale Insects of importance and list of the species in New York. (New York State Museum. 54 annual Rep. of the Regents 1900. Vol. IV. Museum Bulletins. N. 46. Albany 1902. p. 287—380. 15 Taf.)
- Hennings, P.**, Einige schädliche Blattpilze auf kultivierten Himalaya-Rhododendron. (Gartenflora. Jg. LII. 1903. Heft 21. p. 574—576.)
- , Ueber die an Bäumen wachsenden heimischen Agaricineen. (Beiblatt z. Hedwigia. Bd. XLII. 1903. N. 5. p. 233—240.)
- Jacobi, Arnold**, Die Bekämpfung der Frostspanner. Flugbl. d. k. Gesundheitsamtes biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1903. N. 20. 3 p. u. 5 Fig. —, 5 Pf.
- Istvanfi, J. v.**, Ueber neue Weinrebenschädlinge in Ungarn. (Vortrag geh. in der k. Ungar. Naturw. Ges. Budapest 1903.)

- Istvanffy, J. v.**, Grundlegende Versuche zum Schutze gegen Botrytis und Mouillia. (Vortrag geh. in der k. Ungar. Naturw. Ges. Budapest 1903.)
- , Ithyphallus gomba etc. Ueber das gemeinsame Auftreten des Ithyphalluspilzes und der Coepophagusmilbe in Ungarn. (Math. Termész. Értes. A. M. T. Akad. III. osztál. fol. XXI. 1903. N. 2. p. 157—176.)
- Kirchner, O.**, Der Steinbrand und seine Bekämpfung. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. I. 1903. Heft 10. p. 116—120. 6 Fig.)
- , Die Hopfenwanze und die durch sie verursachte Unfruchtbarkeit des Hopfens. (Württemberg. Wehnbl. f. Landw. 1903. N. 37. p. 475—478. 2 Fig.)
- , Die Bekämpfung des Steinbrandes. (Württemberg. Wehnbl. f. Landw. 1903. N. 38. p. 489—490.)
- Lewis, E. J.**, The oak galls and gall insects (Cynipidae) of Epping Forest. (Essex Naturalist. Vol. XII. 1903. p. 267—286.)
- Mottareale, G.**, L'Ustilago reiliana forma zeae e la formazione dei tumori staminali nel granone. (Ann. R. Scuol. sup. d'Agron. Portici. T. IV. 1902. 17 p. 2 Taf.)
- Paulson, B.**, Fungoid disease in Hornbeams. (Essex Natural. Vol. XIII. 1903. Pt. 1. p. 45.)
- 17th Report of the State Entomologist on injurious and other insects of the State of New York 1901. (New York State Museum. Bull. N. 53. Entomol. 14. Albany 1902. p. 699—925. M. Taf.)
- 18th Report of the State Entomologist on injurious and other insects of the State of New York 1902. (New York State Museum Bull. 64. Entomology 17. Albany 1903. p. 89—193. 6 Taf.)
- Rivière, Ch.**, La teigne des platanes. (Réveil Agric. Marseille. T. XI. 1903. N. 512. p. 51—52.)
- Ross, H.**, Die Gallenbildungen (Cecidien) Bayerns. [Schluß.] (Ber. Bayer. Bot. Ges. 1903. N. 27. p. 296—299.)
- Sajó, Karl**, Neues über die Apfelmotte. (Oesterr. Landw. Wehnbl. Jg. XXIX. 1903. N. 43. p. 341—342.)
- Scalia, G.**, Di una nuova malattia dell' Asclepias curassavica Spr. Agric. Calabro-Siculo. T. XXVII. 1903. N. 24.)
- Smith, E. F.**, The effect of Black Rot on turnips: a series of photomicrographs, accompanied by an exploratory text. (Bull. U. S. Depart. of Agric. Bur. of plant Ind. 1903. N. 29. p. 1—20. 13 Taf.)
- Speschnew, N. M.**, Arbeiten des kaukasischen Laboratoriums. 1. Stilbum sp. auf den Blättern des Weinstocks. 2. Ueber das Auftreten und den Charakter des Black rot im Dagestan. 3. Ueber eine durch Pilze und einigen Formen des Wachholders hervorgerufene teratologische Erscheinung. [Vorl. Mitt.] (Arb. d. botan. Gart. Tiflis. 1902. N. 2. p. 75—84.)
- Smith, E. F.**, Observations on a hitherto unreported bacterial disease the cause of which enters the plant through ordinary stomata. (Science. N. S. Vol. XVII. 1903. N. 429. p. 456—457.)
- , Completed Proof that Pseudomonas Stewarti is the cause of the Sweet corn disease of Long Island. (Science. 1903. p. 457.)
- Trail, J. W. H.**, Gall-making Fungi on roots of Iuncus. (Ann. Scottish Nat. Hist. 1903. N. 47. p. 188—189.)
- Wagner**, Das Vorkommen des Hirsezünslers (Gliederwurms) in Hopfengärten. (Wehnbl. d. landw. Vereins in Bayern. Jg. XCIII. N. 38. p. 894.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Freudenreich, Ed. v.**, Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen, p. 327.
- Grijns, G.**, Die Ascusform des Aspergillus fumigatus, p. 330.
- Hefferan, Mary**, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment, p. 311.
- Malkoff, Konstantin**, Eine Bakterienkrankheit auf Sesamum orientale in Bulgarien, p. 333.
- Omelianski, W.**, Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. (Schluß), p. 317.

Samkow, S., Zur Physiologie des *Bacillus prodigiosus*, p. 305.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Lindner, P., Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*, p. 336.

—, Die biologische Analyse der untergärigen Bierhefe mit Hilfe eines Vortrocknungsverfahrens, p. 336.

Referate.

Baudisch, Fr., Ueber *Dendroctonus micans* Kug., p. 359.

Benecke, W. und **Keutner, J.**, Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee, p. 346.

Bergmiller, F., *Dendroctonus micans* und *Rhizophagus grandis*, p. 359.

Bokorny, Th., Kann Hefe mit Formaldehyd ernährt werden? p. 343.

—, Zur Frage der Kohlensäure-Assimilation, p. 344.

Bubák, Fr., Zwei neue, Monocotylen bewohnende Pilze, p. 355.

Cannon, Matthew J., Diastase, p. 341.

Falck, E., Die Kultur der Oidien und ihre Rückführung in die höhere Fruchtform bei den Basidiomyceten, p. 354.

Delbrück, M., Die Anwendung der Enzymforschung auf die Essiggärung, p. 342.

Hennings, P., *Fungi S. Paulenses* a cl. Puttemans collecti II., p. 358.

Ikeno, S., Die Sporenbildung von *Taphrina*-Arten, p. 342.

Kohl, F. G., Untersuchungen über die von *Stilbella flavida* hervorgerufene Kaffeekrankheit, p. 355.

Möller, A., Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden, p. 348.

Neger, F. W., Ein Beitrag zur Mykorrhizafrage: Der Kampf um die Nährsalze, p. 350.

Petri, L., Di un nuovo bacillo capsulato e del significato biologico delle capsule, p. 347.

Reuss, Hermann, Die Besenpfrieme (*Spartium scoparium* L.) die Amme (?) der Fichte, p. 351.

Richter von Binnenthal, Fr., Die Rosenschädlinge aus dem Tierreiche, deren wirksame Abwehr und Bekämpfung, p. 361.

Sajó, Karl, Neues über die Apfelmotte, p. 360.

Schaudinn, Fr., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus Bütschlii* n. sp., p. 337.

—, Beitrag zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. II. *Bacillus sporonema* n. sp., p. 339.

Schorler, B., Beiträge zur Verbreitung des Moschuspilzes, p. 352.

Seifert, W., Ueber die Vergärung von Zitronensäure als Ursache einer Erkrankung des Johannisbeerweines, p. 346.

Sorauer, Paul, Ueber Frostbeschädigungen am Getreide und damit in Verbindung stehende Pilzkrankheiten, p. 362.

Ulpiani, C. e Sarcoli, L., Sulla fermentazione alcoolica del mosto di fico d'India, p. 343.

—, Fermentazione alcoolica del mosto di fico d'India con lieviti abituati al fluoruro di sodio, p. 343.

Weis, Fr., Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz), p. 341.

Neue Litteratur, p. 363.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3¹.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Bd.

25 Jena, den 26. Januar 1904. 29

No. 12/13.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methan- gärung der Cellulose.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im
Kaiserl. Inst. für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von **W. Omelianski.**

In der im vorigen Jahre veröffentlichten Mitteilung „Ueber die
Gärung der Cellulose“¹⁾ ist folgendes Verfahren zur Trennung der
Methan- und der Wasserstoffgärung der Cellulose von uns ange-

1) Omelianski, W., Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt.
Abt. II. Bd. VIII. p. 193, 225, 257, 289, 321, 353, 385 u. 605.)

geben worden: Wenn man in einen langhalsigen Kolben irgend ein Cellulosepräparat (Papier, Watte, durchgehecheltes Flachs u. drgl.) hineinwirft, Kreide zusetzt, den Kolben ganz mit einer Flüssigkeit anfüllt, welche auf einen Liter destillierten Wassers 0,1 Proz. phosphorsaures Ammon, 0,1 Proz. phosphorsaures Kali, 0,05 Proz. schwefelsaure Magnesia und ein wenig Kochsalz enthält, und denselben dann mit Schlamm oder Pferdemist infiziert, so entwickelt sich unter solchen Bedingungen gewöhnlich die Methangärung der Cellulose, welche auch in den weiteren Abimpfungen erhalten bleibt, wenn dieselben ohne Erhitzen des Impfmateri- als ausgeführt werden. Werden dagegen die Abimpfungen unter Erhitzung des Impfmateri- als (15 Minuten bei 75°) vorgenommen, so werden hierdurch Bedingungen geschaffen, welche die Entwicklung der Wasserstoffgärung der Cellulose begünstigen. Diese Tatsache versuchten wir auf folgende Weise zu erklären:

„Impft man mit einem Material, welches Sporen der Mikroben beider Gärungen enthält, sei es Schlamm, Mist oder ein künstliches Gemenge, so entsteht zunächst die Methangärung, deren Inkubationszeit kürzer ist als die der Wasserstoffgärung. Erhitzen wir nun eine solche einseitig entwickelte Kultur, so ist es klar, daß wir die ausgekeimten oder auskeimenden Sporen des Methanbacillus dadurch abtöten, die noch ruhenden Sporen des Wasserstoffbacillus aber unbeschadet und entwicklungsfähig bleiben werden.

Wenn wir dieses Verfahren — die Abimpfung unter Erhitzung — der Sicherheit halber mehrmals wiederholen, so müssen wir dadurch die Keime des Methanbacillus vollkommen vernichten und unsere Kulturen werden dann nur die Wasserstoffgärung liefern. Ebenso ist es klar, daß, wenn wir das gemischte Material im Stadium der reinen Methangärung, wo die Sporen des Wasserstoffbacillus sich noch im Ruhezustande befinden, abimpfen, wir nach einer Reihe von Abimpfungen die Keime des letzteren gänzlich ausschließen werden und daß eine Erhitzung des Impfmateri- als dann nicht mehr jene charakteristische Verwandlung der Methangärung in Wasserstoffgärung bewirken wird.“

Es erschien uns interessant, alle diese Erwägungen, zu denen wir auf Grund isolierter Beobachtungen gelangt waren, durch einen größeren, speziell hierzu angestellten Versuch zu bestätigen, um so mehr als dieser Punkt unserer Arbeit noch etwas unklar geblieben ist.

Als Ausgangskultur diente in unserem Versuche ein Kolben, der reichlich mit gleichen Mengen von lebensfähigen Bacillen der Methan- und der Wasserstoffgärung der Cellulose geimpft war. Eine derartige künstliche Mischkultur herzustellen, bot uns keine Schwierigkeiten, da uns gut arbeitende Kulturen zu Gebote standen, welche in einer langen Reihe von Ueberimpfungen außer Kohlensäure ausschließlich Wasserstoff resp. Methan bildeten. Von dieser Kultur ausgehend, machten wir uns folgendes zur Aufgabe:

1) die ursprüngliche Serie von Abimpfungen ohne Erhitzung weiterzuführen und auf diese Weise den Bacillus der Wasserstoffgärung der Cellulose aus dem Mikrobengemenge allmäh-

lich zu verdrängen, mithin also die reine Methangärung festen Fuß fassen zu lassen;

2) von jeder Generation dieser ursprünglichen Serie weitere Abimpfungen mit Erhitzung ($75^{\circ} 15'$) vorzunehmen, um die Wasserstoffgärung der Cellulose hervorzurufen und auf diese Weise zu bestimmen, bis zu welcher Generation in jenem künstlichen Mikrobengemenge keimfähige Sporen des Wasserstoffbacillus erhalten bleiben.

Es versteht sich von selbst, daß das Wesen der Aufgabe, die wir uns gestellt hatten, eine beständige Kontrolle der Zusammensetzung der bei der Gärung ausgeschiedenen Gase notwendig machte. Dieses geschah auch, soweit es möglich war, in allen einzelnen Gärungsversuchen, mit Ausnahme weniger Fälle, wo durch Zufall die Gasanalyse nicht ausgeführt werden konnte.

Auf Grund der Gesichtspunkte, welche wir hinsichtlich des Mechanismus der Trennung von Methan- und Wasserstoffgärung der Cellulose bereits aufgestellt hatten, waren wir berechtigt, zu erwarten,

1) daß die ursprüngliche Serie der Abimpfungen ohne Erhitzung uns reine Methangärung liefern würde, ungeachtet dessen, daß das Ausgangsmaterial für diese Impfungen bekanntermaßen große Mengen von Sporen des Wasserstoffbacillus enthielt;

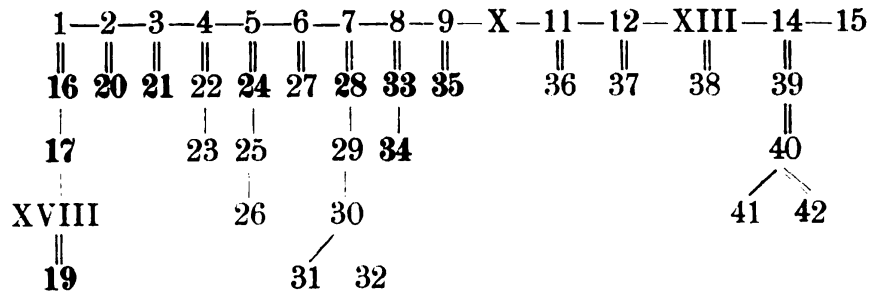
2) daß die von den ersten Generationen unter Erhitzung ($75^{\circ} 15'$) vorgenommenen Abimpfungen die Wasserstoffgärung geben würden, dagegen die von den letzten Generationen gemachten Abimpfungen die Methangärung, welche letztere dann schon unverändert bleiben würde, unabhängig davon, ob wir mit erhitztem oder nicht erhitztem Material impfen würden;

3) daß vielleicht als Uebergang von den Kulturen des ersten Typus (Methangärung, die bei Erhitzung des Impfmateri als in Wasserstoffgärung übergeht) zu denen des zweiten Typus (beständige Methangärung) solche Kulturen auftreten würden, deren Abimpfungen ein schwankendes Resultat liefern.

Wie wir gleich sehen werden, bestätigten sich alle unsere Erwartungen in vollem Maße. Um nicht den Text durch Aufzählung aller auf die einzelnen Kulturen dieses Versuches bezüglichen Einzelheiten zu belasten, haben wir das ganze hierher gehörige Material in tabellarischer Form zusammengefaßt (siehe unten). Hier jedoch wollen wir der größeren Uebersichtlichkeit halber ihn schematisch darstellen.

Auf der nächstfolgenden Tabelle bezeichnen wir mit gewöhnlichen arabischen Ziffern die Nummern der Kolben, in welchem durch die Gasanalyse die Methangärung der Cellulose nachgewiesen ist; fette arabische Zahlen bezeichnen die Nummern der Kolben mit Wasserstoffgärung der Cellulose; römische Ziffern endlich bezeichnen diejenigen Kolben, deren Gärungscharakter nicht durch die Gasanalyse festgestellt worden ist. Ein einfacher Strich (—) bedeutet, daß die Abimpfung ohne Erhitzung vorgenommen wurde, ein Doppelstrich (==), daß die Abimpfung unter Erhitzung ($75^{\circ} 15'$) stattfand. Es ist also der Kolben 1 unsere Stammkultur.

welche mit einer Mischung der Mikroben beider Cellulosegärungen geimpft war, in welcher jedoch durch die Gasanalyse reine Methangärung nachgewiesen war. Von diesem Kolben wurden 2 Abimpfungen vorgenommen: die eine ohne Erhitzung, welche die Methangärung ergab (Kolben 2), die andere mit Erhitzung, in welcher die Wasserstoffgärung Platz ergriff (Kolben 16) u. s. f.



Die oberste horizontale Zeile dieses Schemas bezeichnet einerseits die Kolbennummern der Hauptserie von Abimpfungen ohne Erhitzung, andererseits aber auch die Reihenfolge der Generationen. Wir sehen nun, daß die ersten 2—3 Generationen sich durch dauerhaften Uebergang von der Methangärung zur Wasserstoffgärung als Folge der Erhitzung des Impfmateri als kennzeichnen. Hat die Wasserstoffgärung erst Platz ergriffen, so bleibt dieselbe später auch dann erhalten, wenn wir die weiteren Abimpfungen ohne Erhitzung vornehmen (Kolben 17). Die unter Erhitzen angeführten Abimpfungen von den Generationen 4—9 ergeben bereits ein schwankendes Resultat. Man erzielt entweder Methangärung (Kolben 22 und 27) oder Wasserstoffgärung, welche später wieder in Methangärung übergeht (die Abimpfungen der 5. und 7. Generation). Von den vier letzten Generationen endlich (11—15) müssen wir annehmen, daß hier die Methangärung der Cellulose ganz beständig geworden ist. Bei denselben ist die Erhitzung des Impfmateri als schon nicht mehr im stande, einen Umschlag der Methan- in Wasserstoffgärung auszulösen, wie die ganze Reihe der successive unter Erwärmung ausgeführten Abimpfungen vom 14. Kolben der Grundreihe an (Kolben 39, 40 und 42) zeigen. Offenbar sind die Sporen der Wasserstoffgärung bereits durch die vorausgegangene Reihe von Abimpfungen eliminiert worden.

In der weiter folgenden großen Tabelle finden sich alle auf die einzelnen Kulturen bezüglichen Daten, nach der Reihenfolge der Nummern der Kulturen angeordnet. Hier ist zu erwähnen, daß die Impfungen in allen Fällen überaus reichlich vorgenommen wurden, um die Inkubationsperiode möglichst abzukürzen und den Erfolg der Impfung zu sichern. Wir hofften, auf diese Weise die Dauer unseres Versuches abzukürzen zu können, welcher über einen ungemein großen Zeitabschnitt sich zu erstrecken drohte. Dieses Ziel jedoch wurde nicht erreicht (unser Versuch dauerte fast 2 Jahre), und zwar hauptsächlich deshalb, weil wir infolge der reichlichen Aussaaten denjenigen Termin bedeutend in die Ferne rückten, an welchem man die Methangärung in der Grundserie

der Abimpfungen als vollständig konstant ansehen durfte (11. bis 15. Generation). Aus den in unserer Arbeit über die Gärung der Cellulose (loc. cit.) angeführten Daten läßt sich ersehen, daß die Methangärung bei weniger reichen Aussaaten bedeutend früher beständig wird.

Sämtliche Kulturen dieses Versuches wurden in langhalsigen Kolben gemacht, die mit dem Gasableitungsrohre versehen waren. Außer der Kreide und der oben namhaft gemachten Salzlösung wurden verschiedene Präparate der Cellulose, welche in der Anmerkung bei jedem Einzelversuche genannt sind, in die Kolben gebracht.

(Siehe Tabelle auf p. 374—376.)

Wie aus diesem Versuche ersichtlich, ist unsere Voraussetzung, die Methode zur Trennung der Wasserstoff- und Methangärung durch Erhitzung des Impfmateri als beruhe auf der verschiedenen Wachstumsenergie unserer beiden Bacillen, durch die Tatsachen bestätigt worden. Wir besitzen ein zwar etwas langsames, jedoch vollkommen sicheres Verfahren zur Trennung der beiden Mikroben, deren Kultur auf festen Substraten bisher absolut nicht gelingen will. Dennoch läßt sich nicht in Abrede stellen, daß die von uns beschriebenen Erscheinungen theoretisch noch viel Rätselhaftes darbieten. Es ist uns vollkommen verständlich, daß die Methangärung infolge der größeren Wachstumsenergie der betreffenden Mikroben sich schneller entwickeln muß, als die Wasserstoffgärung, was zur reinen Methangärung am Anfange des Prozesses führen muß. Es ist uns aber nicht ganz klar, weshalb auch späterhin, bis zum Ende des Versuches, die Wasserstoffgärung sich durch nichts bekundet, trotz der Anwesenheit einer großen Anzahl von Keimen der Wasserstoffbacillen. Ganz verständlich ist andererseits das Auftreten der reinen Wasserstoffgärung, sobald sämtliche Keime des Methanbacillus durch Erhitzung abgetötet sind. Wenn es sich jedoch, wie wir an einigen Kulturreihen erkennen, bei erneuerter Abimpfung herausstellt, daß diese Keime durch die Erhitzung nicht vollständig vernichtet sind, so ist es nicht ganz verständlich, weshalb bei genügender Dauer des Versuches die Methangärung sich nicht der Wasserstoffgärung beimengt. Zur Erklärung dieser Erscheinungen müßten wir annehmen, daß die früher zur Entwicklung gelangte und bis zu einer gewissen Intensität fortgeschrittene Gärungsart das Auftreten der anderen Gärungsart hemmt, wofür wir ja unter bereits bekannten Tatsachen manche Analogie finden könnten. Doch müssen wir uns vor der Hand enthalten, ein definitives Urteil darüber auszusprechen, inwieweit diese Tatsachen mit dem von uns beschriebenen Wechsel von Methan- und Wasserstoffgärung vergleichbar sind.

Wie dem nun auch sei, und was auch immer der von uns beschriebenen Erscheinung zur Erklärung dienen möge, jedenfalls bleibt die Tatsache feststehend, daß die Wasserstoffgärung in der größten Mehrzahl der Fälle nicht zur Entwicklung gelangt, sobald die Methangärung Platz greift und umgekehrt.

Wir möchten gern noch auf einen Punkt in unserer Versuchs-

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte, und ob erhitzt wurde	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse				Anmerkungen
				CH ₄	H ₂	CO ₂	Datum der Ausführung	
1	Reichlich geimpft mit Gemisch von Sporen der Bacillen der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose. Das Impfmateriale wurde nicht erhitzt	14. Sept. 1901	19. Sept.	70,3 50,3 37,0 28,2 26,4	— — — — —	30,6 50,6 63,5 71,9 73,7	23. Sept. 1. Okt. 11. Okt. 21. Okt. 29. Okt.	Papier
2	Von No. 1 ohne Erhitzung	24. Sept. 1901	30. Sept.	59,5 50,8 32,9 27,7	— — — —	40,8 48,9 67,4 72,3	7. Okt. 11. Okt. 21. Okt. 27. Okt.	Papier
3	Von No. 2 ohne Erhitzung	31. Okt. 1901	10. Nov.	65,5	—	34,5	19. Nov.	Papier
4	Von No. 3 ohne Erhitzung	20. Nov. 1901	28. Nov.	25,5	—	74,4	11. Jan. 1902	Papier
5	Von No. 4 ohne Erhitzung	18. Jan. 1902	31. Jan.	46,5	—	53,5	3. Febr.	Papier
6	Von No. 5 ohne Erhitzung	6. Febr. 1902	21. Febr.	47,6	—	52,9	2. März	Papier
7	Von No. 6 ohne Erhitzung	5. März 1902	15. März	53,9	—	45,9	16. März	Papier
8	Von No. 7 ohne Erhitzung	18. März 1902	27. März	46,1	—	53,8	29. März	Papier
9	Von No. 8 ohne Erhitzung	11. April 1902	24. April	35,1	—	64,7	27. April	Papier
10	Von No. 9 ohne Erhitzung	29. April 1902	?	Nicht ausgeführt				Papier. Ausserst schwache Gärung
11	Von No. 10 ohne Erhitzung	6. Sept. 1902	15. Sept.	56,2	—	44,1	18. Sept.	Papier
12	Von No. 11 ohne Erhitzung	20. Sept. 1902	20. Okt.	50,6	—	49,6	26. Okt.	Papier. Sehr spärliche Aussaat
13	Von No. 12 ohne Erhitzung	5. Nov. 1902	?	Nicht ausgeführt				
14	Von No. 13 ohne Erhitzung	17. Jan. 1903	8. Febr.	38,5	—	61,5	21. Febr.	Ausgehechelter Flachs
15	Von No. 14 ohne Erhitzung	27. Febr. 1903	10. März	54,5	—	45,5	14. März	Ausgehechelter Flachs
16	Von No. 1 mit Erhitzung	24. Sept. 1901	1. Okt.	— — —	30,9 30,4 37,4	68,9 69,0 63,0	7. Okt. 9. Okt. 20. Okt.	Papier
17	Von No. 16 ohne Erhitzung	31. Okt. 1901	25. Nov.	— —	11,2 64,2	88,1 35,8	5. Dez. 15. Jan. 1902	Papier

Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose. 375

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte, und ob erhitzt wurde	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse				Anmerkungen
				CH ₄	H ₂	CO ₂	Datum der Ausführung	
18	Von No. 17 ohne Erhitzung	19. Jan. 1902	?	Nicht angeführt				Papier. Aeus- serst schwache Gärung
19	Von No. 18 mit Erhitzung	29. April 1902	6. Mai	—	23,6	76,4	8. Mai	Ausgeheelter Flachs
20	Von No. 2 mit Erhitzung	1. Nov. 1901	9. Nov.	—	8,2 12,0	91,2 87,8	12. Nov. 14. Nov.	Papier. Stür- mischer Cha- rakter der Gä- rung
21	Von No. 3 mit Erhitzung	20. Nov. 1901	25. Dez.	—	40,9	59,2	15. Jan. 1902	Papier
22	Von No. 4 mit Erhitzung	18. Jan. 1902	1. Febr.	32,5 33,0	—	67,5 67,0	6. Febr. 10. Febr.	Papier
23	Von No. 22 ohne Erhitzung	6. März 1902	15. März	54,6 34,5	—	45,9 65,1	19. März 23. März	Ausgeheelter Flachs
24	Von No. 5 mit Erhitzung	6. Febr. 1902	13. Febr.	—	26,3	73,6	15. Febr.	Papier. Das im Laufe des März ausge- schiedene Gas bestand fast ausschließlich aus Kohlen- säure
25	Von No. 24 ohne Erhitzung	8. März 1902	16. März	52,8 45,1	—	46,9 54,9	19. März 20. März	Papier
26	Von No. 25 ohne Erhitzung	21. März 1902	2. April	58,0	—	42,2	14. April	Papier
27	Von No. 6 mit Erhitzung	5. März 1902	19. März	37,0	—	62,9	24. März	Papier
28	Von No. 7 mit Erhitzung	18. März 1902	30. März	—	36,1 30,4	64,1 69,4	31. März 2. April	Papier
29	Von No. 28 ohne Erhitzung	4. April 1902	15. Mai	31,2	—	69,4	6. Juni	Papier
30	Von No. 29 ohne Erhitzung	6. Sept. 1902	30. Okt.	29,7	—	70,4	25. Jan. 1903	Papier
31	Von No. 30 ohne Erhitzung	20. Jan. 1903	12. Febr.	31,8	—	68,4	1. März	Ausgeheelter Flachs
32	Von No. 30 mit Erhitzung	8. Febr. 1903	27. Febr.	60,7	—	39,3	5. März	Ausgeheelter Flachs
33	Von No. 8 mit Erhitzung	11. Apr. 1902	22. April	—	40,8 25,7	59,3 74,3	24. April 30. April	Papier. Anfangs stürmische Gä- rung, die je- doch bald ru- hig wird
34	Von No. 33 ohne Erhitzung	6. Sept. 1902	13. Sept.	—	15,0	84,6	15. Sept.	Papier
35	Von No. 9 mit Erhitzung	29. April 1902	6. Mai	—	30,7	69,5	8. Mai	Papier

No. der Kolben	Woher die Impfung stammte, und ob erhitzt wurde	Datum der Impfung	Beginn der Gärung	Gasanalyse				Anmerkungen
				CH ₄	H ₂	CO ₂	Datum der Ausführung	
36	Von No. 11 mit Erhitzung	23. Okt. 1902	7. Nov.	39,3	—	60,6	13. Nov.	Mit durch Gärung halbverfaultem Papier zu Pulver zermahlen
37	Von No. 12 mit Erhitzung	5. Nov. 1902	?	26,0	—	74,0	1. Febr. 1903	Papier
38	Von No. 13 mit Erhitzung	17. Jan. 1903	3. Febr.	64,4	—	35,6	11. Febr.	Ausgeheelter Flachs
39	Von No. 14 mit Erhitzung	27. Febr. 1903	10. März	43,0	—	57,0	14. März	Ausgeheelter Flachs
40	Von No. 39 mit Erhitzung	1. April 1903	12. April	19,7	—	80,2	15. April	Ausgeheelter Flachs
41	Von No. 40 mit Erhitzung	15. April 1903	26. April	23,4	—	76,3	30. April	Ausgeheelter Flachs
42	Von No. 40 ohne Erhitzung	15. April 1903	23. April	53,6	—	46,4	29. April	Ausgeheelter Flachs

anordnung aufmerksam machen, welchen wir leider seinerzeit nicht gebührend gewürdigt haben, und welcher möglicherweise auf das Resultat der Impfung im Sinne der Erzielung von Methan- oder Wasserstoffgärung der Cellulose von Einfluß sein könnte. Wir meinen hier die Zeit (in Tagen), welche vom Beginn der Gärung des Impfmateriail liefernden Kolben bis zu dem Zeitpunkte, wo demselben das Material zur Impfung des nächstfolgenden Kolbens entnommen wurde, verflossen ist. Wir wollen diesen Zeitraum als Alter des Impfmateriails bezeichnen und nachsehen, ob derselbe beim Impfen mit erhitztem Material nicht einen Einfluß auf den Charakter der darauffolgenden Gärung erkennen läßt. Betrachten wir von diesem Standpunkte die Reihe von Kulturen, welche mit erhitztem Material successive von den Kolben der Hauptserie (Methanserie) abgeimpft wurden, so sehen wir:

Wasserstoffgärung		Methangärung	
No. der Kolben	Alter des Impfmateriails	No. der Kolben	Alter des Impfmateriails
16	5	22	51
20	10	27	12
21	10	36	39
24	(6)	37	15
28	(3)	38	?
33	15	39	19
35	5		

Wir sehen daraus, daß die Wasserstoffgärung in denjenigen Kolben Platz ergriff, welche mit erhitztem, aber auch verhältnismäßig jungem Material geimpft wurden, und daß dagegen in denjenigen

Kolben, zu deren Impfung man ein älteres Impfmateriel verwendete, die Methangärung auftrat. Man erhält den Eindruck, als wäre das Alter des Impfmateriels nicht ohne Einfluß auf den Charakter der darauffolgenden Gärung bei Impfung mit erhitztem Materiel. Dieses ist auch ganz verständlich, da ja offenbar das Resultat der Abimpfung mit Erhitzung, einerseits vom Zeitpunkt der Auskeimung der Sporen beider Arten in der Mutterkultur, wie anderseits von dem Zeitpunkte der Bildung und der relativen Menge neuer Sporen in derselben im höchsten Grade abhängig sein muß.

Wir verstehen weiter, daß, da das Endresultat von verschiedenen Momenten abhängig ist, wir keineswegs konstant diesen Einfluß des Alters der Kultur beobachten können. So sind z. B. die Nummern 27 und 33 in diesem Sinne Ausnahmen. Doch um sicherer Wasserstoffgärung zu bekommen, könnte man vielleicht raten, ein nicht über 10 Tage altes Impfmateriel zu benutzen.

Nachdruck verboten.

Kritische Studien über die Knöllchenbakterien.

[Mitteilung aus dem Institute für Versuchswesen und Bakteriologie an der kgl. landw. Hochschule zu Berlin.]

Von **H. Süchting**, Assistenten am Institute.

Einleitung.

Die nachfolgende Arbeit wurde im Institute für Versuchswesen und Bodenbakteriologie an der kgl. landwirtschaftl. Hochschule in Berlin, Vorsteher Prof. Dr. Remy, ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Remy auch an dieser Stelle für die gütige Ueberlassung des Arbeitsmateriales meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen. — Nachdem die Isolierung der Knöllchenbakterien und ihre Kultur auf künstlichen Nährsubstraten von Beijerinck zuerst ausgeführt und von anderen Forschern bestätigt, wie auch bei Versuchen verwendet war, wurde Mitte der 90er Jahre des verflossenen Jahrhunderts der Versuch gemacht, bei der Leguminosenimpfung das bis dahin allein benutzte Impfverfahren mit der sogenannten Impferde durch die Methode der Reinkulturimpfung zu ersetzen.

Die Gründe, die hierzu führten, waren verschiedener Art: vor allen Dingen hoffte man, einen besseren Erfolg durch die Impfung mit reinkultivierten Bakterien zu erzielen, dazu kam die leichtere, bequemere Ausführbarkeit der Impfung, und nicht zum mindesten konnte man eine Unzuträglichkeit, die sich bei der Verwendung der Impferde bisweilen gezeigt hatte, nämlich die Uebertragung von Unkrautsamen und Pflanzenschädlingen, ausschalten.

Da Impfversuche mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien ein ermutigendes Resultat gezeitigt hatten, zögerte man nicht, die Herstellung der Kulturen im großen aufzunehmen, um dem Landwirt jederzeit dieses Impfmittel zugänglich zu machen. Indessen ergaben Versuche, die mit diesen technisch hergestellten Kulturen, dem sog.

Nitragin, angestellt wurden, durchaus widersprechende, in der großen Mehrzahl der Fälle negative Resultate, so daß der Vertrieb dieses Präparates wieder eingestellt wurde, und selbst manche Forscher auf Grund dieser ungünstigen Erfolge zu der Ueberzeugung kamen, daß der Impfung von Kulturböden mit Knöllchenbakterien auch für die Zukunft jeglicher Nutzen abzusprechen sei.

So will Wollny¹⁾ auf Grund seiner Untersuchungen mit Nitragin die Anwendung der Impfung nur auf humusarme Böden beschränkt wissen, weil die Bakterien sich in solchen Böden aus Mangel an Energiequelle nicht zu erhalten vermögen. Gerlach stellt die Bodenimpfung, auch mit Knöllchenbakterien, unter Hinweis auf die Versuche mit Nitragin, ganz allgemein als aussichtslos hin, da der Boden Bakterien in genügender Menge beherberge. Auch von anderen Seiten, wo man der Leguminosenimpfung nicht ablehnend gegenüberstand, wurde doch immer hervorgehoben, daß diese Kulturmaßregel nur in besonderen Fällen (auf Neuland, Moor) am Platze und erfolversprechend sei.

Bei den hochgespannten Erwartungen, die man diesem Impfmittel anfangs entgegenbrachte, blieb so nach diesem Mißerfolg, der durch das verfrühte Bestreben verschuldet war, die gesammelten Erfahrungen der landwirtschaftlichen Praxis möglichst bald zu nutze zu machen, die Reaktion nicht aus, und es schien, als ob die Knöllchenbakterienfrage hinsichtlich ihres Zusammenhanges mit der Praxis einen ungünstigen Abschluß gefunden hätte.

Erst in neuester Zeit ist dieses Problem wieder energisch in Angriff genommen worden, nachdem Frank²⁾ gelegentlich einer Besprechung der Nitraginfrage darauf hingewiesen hat, daß die Virulenzverhältnisse dieser Mikroben, bis dahin vollkommen außer acht gelassen, bei der Gewinnung wirksamen Impfmateriels volle Berücksichtigung beanspruchen, so daß der Mißerfolg mit dem Nitragin wohl zu einem großen Teil auf die Nichtbeachtung dieses Umstandes bei der Züchtung der Bakterien zurückzuführen sei.

Diese Anregung hat sich als äußerst fruchtbar erwiesen, und es ist mehr wie wahrscheinlich, daß auf diesem Wege ein abschließendes Urteil über den Wert oder Unwert der Leguminosenimpfung zu finden ist.

Es dürfte deshalb vielleicht nicht ganz nutzlos erscheinen, die Knöllchenbakterienfrage an der Hand der Forschungen der jüngsten Zeit und eigener Versuche einer eingehenden Besprechung zu unterziehen, um einen Ueberblick über den heutigen Stand der Wissenschaft auf diesem Gebiete zu gewinnen.

I. Die wichtigsten neueren Forschungen über die Knöllchenbakterien.

1. Arteinheit.

Die Frage nach der Arteinheit der Knöllchenbakterien, die eine große Zahl der früheren Untersuchungen auf diesem Gebiete zum

1) Vierteljahrsschrift des bayerischen Landwirtschaftsrates. 1898. Heft 2.

2) Frank, Landw. Versuchsstationen. Bd. LI. 1899. p. 444.

Gegenstand hatte, findet sich auch noch in den neueren Forschungen wieder. Ich brauche indessen auf die diesbezüglichen Arbeiten nicht einzugehen, da dieselben von Hiltner¹⁾, der neuerdings seine Hypothese von der Arteinheit der Knöllchenerreger teilweise hat fallen lassen, bereits einer Besprechung unterzogen sind. Hiltner deutet hier den großen Fehler an, den Nobbe und er selbst und ebenso Buhlert²⁾ bei der Schlußfolgerung aus ihren Versuchen begangen haben. Abgesehen davon, daß die Versuche in der Methode schon nicht einwandfrei³⁾ sind, haben diese Forscher die Infektionsresultate, die sie innerhalb der Gruppe der Viciaceen und Phaseoleen erhielten, ohne weiteres auf alle Papilionaceen verallgemeinert und noch dazu die negativen, gegen die Arteinheit sprechenden Resultate, die sie bei Impfungen von Pflanzen anderer Gruppen erhalten hatten, nicht berücksichtigt. Hiltner führt demgemäß aus, daß ein einwandfreier, experimenteller Beweis dafür, daß sich die Knöllchenbakterien weiter absteigender Pflanzengattungen vertreten können, bisher nicht erbracht ist. Er bleibt indessen nicht bei der Feststellung dieser Tatsache stehen, sondern glaubt genügend Gründe zu haben, die eine Trennung der Bakterien in zwei Gruppen, gewissermaßen zwei Species einer Gattung rechtfertigen. Zu der einen Gruppe rechnet er vorläufig sicher die Bakterien von *Lupinus*, *Ornithopus* und *Soja*, die er mit dem Namen *Rhizobium Beijerinckii* belegt, zu der anderen jene von *Pisum*, *Vicia*, *Lathyrus*, *Phaseolus*, *Trifolium*, *Medicago*, *Anthyllis*, *Onobrychis* und *Robinia*, von ihm als *Rhizobium radicicola* bezeichnet.

Als Gründe für diese Auffassung führt er zunächst morphologische Abweichungen der Bakteroiden an, die bei den Bakterien

1) Hiltner u. Störmer, Arbeiten der biol. Abt. des kais. Gesundheitsamtes. Bd. III. Heft 3. p. 267 f.

2) Buhlert, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 148.

3) Buhlert weist bezüglich der Tharandter Versuche darauf hin, daß durch die Tatsache, daß die angewendeten ungeimpften Kontrollpflanzen knöllchenfrei geblieben sind, nicht mit absoluter Sicherheit geschlossen werden darf, daß auch die anderen, geimpften Pflanzen keine Infektion erfahren haben. Bei der von ihm angewendeten Methode will er diesem Mangel dadurch abhelfen, daß er nach beendigten Versuche die Sterilität des betreffenden Bodens nachweist, und zwar derart, daß er Fleischwasserpeptonbouillon mit Bodenproben der betreffenden Gefäße impft. Infektion oder Sterilität des Bodens soll durch Eintreten oder Ausbleiben des Wachstums von Mikroorganismen in der Bouillon festgestellt werden. Buhlert hat hier nicht berücksichtigt, daß er bei dieser Art der Prüfung im höchsten Grade von dem verwendeten Nährboden abhängig ist, mit anderen Worten, daß wohl Infektion eingetreten sein kann, ohne daß in der Nährlösung sich Wachstum bemerkbar macht. Buhlert erwähnt selbst, daß Knöllchenbakterien in der Bouillon nicht gedeihen, vielmehr diese Fähigkeit erst durch längeres Züchten auf Nährböden erlangten; schon hieraus erhellt zur Genüge, daß eine Infektion gerade durch Knöllchenbakterien, die zu vermeiden bei diesen Versuchen ja der Hauptzweck ist, nicht nachgewiesen werden kann. Man ersieht hieraus, wie schwierig die Verhältnisse für eine einwandfreie Prüfung dieser Frage liegen. Die Buhlertsche Methode hat vor der Tharandter den Vorteil voraus, daß in demselben Gefäß die Infektion durch Knöllchenbakterien an Wahrscheinlichkeit einbüßt, wenn solche Mikroben, die in der Bouillon wachsen, nicht nachgewiesen werden können, bei der Tharandter Methode muß man immer von dem Verhalten der ungeimpften auf ganz andere Gefäße schließen.

der zuerst genannten Gattungen stets stäbchenförmig¹⁾ bleiben, abweichend von der verzweigten Form der Bakteroiden der zweiten Gruppe, sodann die Gelatinewüchsigkeit dieser Gruppe, während die Bakterien von *Lupinus* etc. nur kümmerlich auf Gelatinenährböden gedeihen. Außerdem will Hiltner verschiedenes Verhalten gegen gewisse Kohlehydrate sowie ungleiches Ausnutzungsvermögen von Salpeter und Pepton beobachtet haben. Wenn nun einerseits die Tatsache feststeht, daß teilweise in der von Hiltner angegebenen Art Differenzen in morphologischer, biologischer und physiologischer Beziehung vorhanden sind, die allerdings bei der Gestaltung der Bakteroiden, von *Trifolium* und *Pisum* z. B., auch innerhalb einer seiner Gruppen sich finden, so muß andererseits seine Angabe, daß innerhalb dieser beiden Gruppen sich Anpassungsformen bilden können, sehr eingeschränkt werden. Wir wissen bis heute nur, daß die Bakterien der Viciaceen und Phaseoleen sich gegenseitig vertreten können; diese Annahme darf wohl als ziemlich bewiesen gelten. Von den anderen Gattungen dieser einen großen, von Hiltner angegebenen Gruppe wissen wir in dieser Beziehung vorläufig nichts, das allen Einwendungen stand halten kann. In der zweiten Gruppe sind überhaupt keine wechselseitigen Anpassungen nachgewiesen. Die von Hiltner gemachte Beobachtung, daß in freiem Felde durch 2-jährigen Soja-Anbau die Bakterien des Bodens bezüglich ihres Infektionsvermögens der Lupine gegenüber geschwächt sein sollen, kann nicht als Beweis gelten, wie er auch selbst zugibt. Ebenso kann aber auch ein von ihm mit Soja während 3 Jahre durchgeführter Versuch nicht maßgebend sein. Es wurde hierbei so verfahren, daß Soja-Pflanzen Jahr für Jahr in denselben ungeimpften Boden gesät wurden. Hierbei zeigten dieselben in den ersten 2 Jahren keine Knöllchenbildung, dagegen in einem Topf im 3. Jahre an sämtlichen Wurzeln Knöllchen. Hiltner hält eine Infektion für ausgeschlossen und es demgemäß für wahrscheinlich, daß eine Anpassung der im Boden vorhandenen Knöllchenbakterien an die Sojabohne stattgefunden hat. Es ist indessen bei diesen Versuchen keine Gewähr dafür gegeben, daß nicht Fremdinfection eingetreten ist, da gleichzeitig auch mit geimpften Soja-Kulturen operiert wurde, und diese reichliche Knöllchenbildung ungeimpfter Pflanzen sich auch nur in einem Topfe zeigte.

Man ersieht demnach, daß die äußerst schwierige Frage der Arteinheit der Knöllchenbakterien weit davon entfernt ist, entschieden zu sein. Auch die neue Hiltnersche Theorie entbehrt der erforderlichen Grundlage, solange nicht einwandfreie, wechselseitige Infektionsversuche mit den Bakterien aus einer der von ihm aufgestellten Gruppen die Vertretbarkeit der Mikroben innerhalb dieser und mit Bakterien aus beiden Gruppen die Unvertretbarkeit von einer zur anderen Gruppe dargetan haben. Erst dann wird

1) Bei *Lupinus angustifolius* und *luteus* konnte ich verzweigte Bakteroiden in den Knöllchen beobachten.

man darüber entscheiden können, ob zwei Species einer Gattung in dem Hiltnerschen Sinne bestehen¹⁾.

In jüngster Zeit hat sich auch Jakobitz²⁾ mit der Frage der Arteinheit befaßt; er erwähnt indessen nur, daß er die Versuche von Nobbe und Hiltner nachgeprüft hat und den Tharandter Befund hat bestätigen können. Da Einzelheiten fehlen, läßt sich hierüber weiter nichts sagen.

2. Die Bakteroiden.

Ueber die Morphologie der Knöllchenbakterien bei der Züchtung auf künstlichen Nährböden haben in neuester Zeit verschiedene Forscher Untersuchungen angestellt. Alle legen besonderen Wert auf die Klarstellung der Ursachen, durch die die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden außerhalb der Wirtspflanze bei der Kultur auf künstlichen Nährmedien bewirkt wird. Diese Erscheinung ist von einigen Forschern unabhängig voneinander festgestellt worden. Indessen hat Beijerinck wohl zuerst, allerdings nur in einem Falle, die Beobachtung gemacht, daß die Bakteroiden auch auf künstlichen Nährböden entstehen. Laurent³⁾ erwähnt in einer Abhandlung, daß er in Nährlösungen mit und ohne Gelatinezusatz die typischen Y- und T-Formen bei den Knöllchenbakterien entstehen sah, während andererseits Prazmowski⁴⁾ die Beobachtung Beijerincks als irrtümlich bezeichnete, weil es ihm nie gelang, die Bakteroidenformen in Kulturen auf Nährsubstraten nachzuweisen. Neuerdings konnten Stutzer und ebenso Hiltner die Beobachtungen von Beijerinck und Laurent bestätigen. Stutzer⁵⁾ fand, daß organische Säuren, von denen er Bernsteinsäure, Apfelsäure, Weinsäure und einige andere benutzte, diese Umwandlung in Bakteroiden bewirken müssen. Später⁶⁾ verwendete er Samenextrakte der betreffenden Leguminosen in verschiedenen Konzentrationen mit Zusätzen von Kohlehydraten und stickstoffhaltigen Körpern als Nährmedien. Auch hier gibt er als Ursache der Bakteroidenbildung die Einwirkung chemischer Stoffe auf die Bakterien an, von denen besonders Kohlehydrate, und hiervon Inulin starke Vermehrung und gute Ausbildung der Bakteroiden bewirkte. Auf festen Nährböden sah Stutzer selten Bakteroiden entstehen. Hiltner⁷⁾ will diese Wuchsform der Bakterien auf den Einfluß gewisser Wurzelsubstanzen zurückführen, indem ein Dekokt von Leguminosenwurzeln als Nährlösung diene. Hartleb⁸⁾ ferner

1) Nach Fertigstellung dieser Arbeit kam mir ein Referat von B. Schulze zu Gesicht, Seradella und Kalk (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. No. 20/21. p. 665 u. f.). Der Verfasser kommt bei Besprechung der Hiltnerschen Arbeiten ebenfalls zu dem Ergebnis, daß die von diesem Forscher angeführten Gründe zur Sicherstellung seiner Auffassung von der Arteinheit unzureichend sind.

2) Jakobitz, Münchener medicin. Wochenschr. Jahrg. 1902. No. 36.

3) Laurent, Comptes rendus. T. CXI. 1890. p. 755.

4) Prazmowski, Landw. Versuchsstationen. Bd. XXXVII. 1890. p. 204.

5) Stutzer, Mitteilungen der landw. Institute der Universität Breslau. 1900. Heft 3.

6) Stutzer, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901.

7) Hiltner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900.

8) Hartleb, D. R. P. 121317.

will durch Zusatz von sauren Kaliumphosphaten Bakteroidenbildung veranlassen. Auch sollen nach diesem Forscher die in Form von Bakteroiden gezüchteten Bakterien größeres Infektions- und Stickstoffsammelungsvermögen besitzen als die Stäbchenform, die ausschließlich auf festen Nährböden entsteht. Den Beweis für diese Annahme ist Hartleb schuldig geblieben. Neumann ¹⁾ prüfte eine große Anzahl von Nährböden auf ihre Fähigkeit, bakteroidenbildend zu wirken. Auch dieser Forscher konnte beobachten, daß die Bakteroiden auf festen Nährböden nicht entstehen. Besonders unterzog Neumann die von Hiltner aufgestellte Behauptung, daß der Salpeter die Bakterien besonders rasch in Bakteroiden umwandelt, einer Nachprüfung. Er verwendete über 60 verschiedene Nährlösungen mit 0,3 Proz. Salpeter, konnte aber die Beobachtungen Hiltners nicht bestätigen, er fand nur in wenigen Fällen Verzweigungen und hier auch in derselben Lösung bei Fortlassung des Nitrats. Schließlich ist diesem Gegenstande in Hiltners letzter Arbeit ²⁾ ein breiter Platz eingeräumt. Hiltner prüfte den Einfluß der verschiedensten Stoffe, die als Nährsubstanzen für die Knöllchenbakterien in Frage kommen, auf die Bakteroidenbildung. Er fand, daß viele Stoffe mehr oder weniger bakteroidenbildend wirken, in hohem Maße jedoch vorwiegend nur Kohlehydrate und Salpeter. Hiltner verwendete im Gegensatz zu Neumann eine reine Salpeterlösung in Leitungswasser ohne Zusatz anderer Stoffe in Konzentrationen von 0,02—2 Proz., wobei mit zunehmendem Salpetergehalt nach etwa 2 Monaten ziemlich starke Vermehrung der eingepfropften Bakterien stattgefunden hatte, eine Erscheinung, die nur erklärlich wird, wenn man annimmt, daß das verwendete Leitungswasser reichlich organische Stoffe gelöst enthält. Verdünntere Salpeterlösung wirkte stärker bakteroidenbildend wie konzentrierte. Auf Grund aller Untersuchungsergebnisse kommt Hiltner zu der Ueberzeugung, daß die Kohlenstoffenergiequelle allein die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden bewirkt.

Ueber die Ursache, die diese Verzweigungsfähigkeit der Bakterien hervorruft, sind demnach Stutzer, Hartleb, Hiltner und Neumann sich einig, daß nämlich spezifische Nährstoffe diese Bildung bewirken.

Es muß nun aber auffällig erscheinen, daß so vielen Körpern verschiedenster Konstitution diese Eigenschaft zukommen soll; bald sind es saure Kaliumphosphate, bald organische Säuren oder Salpeter oder Kohlehydrate oder endlich pektinartige Stoffe, die bei der Quellung von Leguminosensamen im Wasser aus diesen extrahiert werden. Eine Gesetzmäßigkeit in dem Sinne, wie die angeführten Forscher es wollen, tritt hier durchaus nicht klar hervor. Denn es kommt hier noch hinzu, daß von einigen Forschern, so Neumann und Prazmowski, auf festen Nährböden nie Bakteroiden gefunden sind, und auch die anderen Forscher finden, daß für gewöhn-

1) Neumann, Landw. Versuchsstationen. Bd. LVI. Heft 2, 3.

2) l. c. p. 217.

lich auf festen Nährmedien die Vermehrung lediglich in Stäbchenform vor sich geht. Es ist natürlich, daß gerade bei dem Nachweis, ob Verzweigungen vorhanden sind oder nicht, nur zu leicht Irrtümer vorkommen können, da diese Untersuchungen mit allen Fehlern subjektiver Beobachtung behaftet sind. Ich habe im Einklang mit Prazmowski und Neumann bei den zahlreichen Kulturen, die zwecks Verwendung bei den später zu beschreibenden Versuchen mikroskopisch zu untersuchen waren, auch nicht in einem einzigen Fall auf festen Nährböden Verzweigungen beobachten können. Wie diese widersprechenden Befunde doch vielleicht eine Erklärung finden können, ohne daß ein Irrtum bei der Beobachtung der Bakteroidenbildung erforderlich zu sein braucht, werde ich weiter unten zeigen.

Es ist hier nun im Zusammenhang mit den soeben erwähnten Tatsachen auffällig, daß in Nährlösungen, die vermöge ihrer Zusammensetzung ein einigermaßen gutes Wachstum der Bakterien hervorrufen, Verzweigungen fast regelmäßig auftreten. Diese Erscheinung muß die Annahme von der Einwirkung chemischer Nährstoffe auf die Bakteroidenbildung sehr zweifelhaft erscheinen lassen.

Den Nachweis, daß durch die Darbietung des Nährsubstrates in Form einer Lösung allein eine Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden stattfindet, konnte ich führen, und es sei mir gestattet, schon an dieser Stelle die diesbezüglichen Versuche anzuführen.

Es wurden verschiedene Nährböden (1 Proz. Pflanzenextrakt mit und ohne 1 Proz. Inulin, schwach sauer, 10 Proz. Gelatine, für Lupinenbakterien 1½, Proz. Agar, neutral) die in Reagenzröhrchen portioniert waren, sowohl für Pferdebohnen- wie Lupinenbakterien (*Lupinus luteus* und *angustifolius*) teils ohne weiteres teils nach Ueberschichtung mit einer 5—6 cm hohen Schicht keimfrei gemachten, destillierten Wassers zur Züchtung der betreffenden Bakterien benutzt. In sämtliche Nährböden resp. -Lösungen wurde nach einem Tag von einer Pferdebohnen- bzw. Lupinenbakterienkultur übergeimpft. Die Kulturen wuchsen sowohl auf den festen Nährböden wie in den aus diesen hergestellten Nährlösungen gut. Die mikroskopische Untersuchung nach 3 × 24 Stunden ergab zunächst Homogenität aller Kulturen, sodann bei den Kulturen auf festen Nährböden den alten Befund: ausschließlich Kurzstäbchen der normalen Größe, keine Bakteroiden; demgegenüber waren in den mit Wasser überschichteten Kulturen sowohl bei Pferdebohnen- wie Lupinenbakterien vorwiegend lange, gerade oder gekrümmte oder einseitig bucklige Stäbe von 3—4 μ Länge vorhanden, die nach weiteren 24 Stunden bei den Pferdebohnenkulturen viele Verzweigungen und bei den Lupinenbakterien Bakteroiden von 6—7 μ Länge ausgebildet hatten, während die Kulturen auf festen Nährböden ausschließlich Stäbchenform beibehielten.

Diese Versuche zeigen deutlich, daß die chemischen Nährstoffe mit der Bakteroidenbildung nicht in Zusammenhang stehen. Denn derselbe Nährboden vermochte in festem Zustande keine Verzweigungsfähigkeit der Bakterien hervorzurufen, wurde er aber ge-

wissermaßen in ein flüssiges Nährmedium umgewandelt, so traten Bakteroiden auf.

Daß nun zunächst die Hiltner'sche Annahme, die Kohlenstoffquelle bewirke die Ausbildung dieser Formen, den beobachteten Tatsachen nicht gerecht wird, sieht man sofort, wenn man sich erinnert, daß auf festen Nährböden nur ausnahmsweise Bakteroiden beobachtet worden sind. Nach dieser Theorie müssen auf jedem Nährboden, auf dem die Bakterien wachsen, auch Bakteroiden vorhanden sein. Aus meinen soeben mitgeteilten Versuchen können nun zwei verschiedene Ursachen abgeleitet werden, denen die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden zuzuschreiben ist. Einmal kann man den geringen Sauerstoffdruck, der in den Lösungen im Verhältnis zu den festen Nährböden vorhanden ist, für die Entstehung der Bakteroiden verantwortlich machen. Das würde mit den Verhältnissen, unter denen diese Wuchsform in den Knöllchen der Pflanze vorhanden ist, in Einklang stehen. Auch hier wird ein geringerer Sauerstoffdruck als in der Atmosphäre sein.

Sodann aber können die Stoffwechselprodukte der Bakterien auf die Entstehung der Bakteroidenform von Einfluß sein, derart, daß nur in einem Medium, wo die Ausscheidungen auf irgend eine Art in ihrer Wirkung auf die Bakterien geschwächt oder ausgeschaltet werden, die Bedingungen für die Bildung der Bakteroiden vorhanden sind. Für diese Annahme sind nun in der Tat manche Anhaltspunkte gegeben. Zunächst wird hierdurch erklärlich, daß in Nährlösungen so oft Bakteroiden beobachtet worden sind, dagegen auf festen Nährböden nicht; auf den festen Medien häufen sich die Ausscheidungsprodukte der Bakterien naturgemäß an, während in den Lösungen für eine starke Verdünnung der Exkrete gesorgt ist. Hiernach muß aber auch in den Nährlösungen event. ein Stadium der Vermehrung der Bakterien eintreten, bei dem die sich nunmehr doch anhäufenden Stoffwechselprodukte trotzdem schädlich wirken. In der Tat hat Neumann¹⁾ gefunden, und ich habe dies bestätigen können, daß in älteren Kulturen in flüssigen Medien (nach etwa 8—14 Tagen) die Zahl der Bakteroiden wesentlich durch Zerfallen derselben in Schwärmer vermindert wird.

In Einklang mit dieser Annahme, daß Stoffwechselprodukte der Bakterien und Bakteroidenbildung in Beziehung stehen, ist ferner die von Nobbe und Hiltner hervorgehobene Tatsache, daß die Bakteroidenbildung mit der Stickstoffassimilation in Zusammenhang steht, indem das Einsetzen der Assimilation dieses Nährstoffes mit dem Erscheinen der Bakteroiden in den Knöllchen zusammenfällt, und Knöllchen von Pflanzen, die nicht mit ihren Bakterien den Stickstoff der Luft zu fixieren vermögen, auch keine oder wenige Bakteroiden beherbergen. Wenn man sich der Annahme nicht verschließt, daß die Stoffwechselprodukte der Bakterien als Stickstoffnahrung²⁾ von der Pflanze verwertet werden, erkennt man auch

1) Neumann, Landw. Versuchstationen. Bd. LVI.

2) Vergl. hierzu meine Ausführungen über diesen Gegenstand im zweiten Teil dieser Arbeit.

hier, daß die Bakteroidenbildung von dem Gehalt des Nährmediums an Ausscheidungsstoffen der Bakterien abhängig erscheint, indem die Pflanze, wenn sie durch Fortnahme der Bakterienexkrete ihre Stickstoffaufnahme beginnt, zugleich den Bakterien hierdurch die Bedingungen für die Entwicklung der Bakteroidenform schafft.

Aus Zeitmangel konnte ich leider diese Frage nicht weiter verfolgen. So wäre es denkbar, wenn diese Annahme von der Ursache der Bakteroidenbildung zutreffend ist, auch auf festen Nährmedien diese Wuchsform in ganz jungen Kulturen, solange eben Stoffwechselprodukte noch in geringem Maße vorhanden sind, Bakteroiden zu finden. Vielleicht war dieses der Fall bei den Forschern, die auf festen Medien Verzweigungen beobachtet haben wollen.

Jedenfalls ist die Annahme von der Einwirkung der Nährstoffe auf die Bakteroidenbildung nicht zutreffend; ob meine Annahme das Richtige trifft, muß auch noch erst das Experiment lehren.

3. Die Biologie und sonstige Morphologie der Knöllchenbakterien.

Hiltner¹⁾ hat nun noch weitere Untersuchungen über die physiologische und morphologische Bedeutung der Bakteroiden angestellt. Es gelang ihm zunächst in kohlenstoffreichen Nährlösungen bei den Bakteroiden eine Differenzierung des Plasmas zu beobachten in der Weise, daß sich ein durch Karbolfuchsin stärker färbbares Kernplasma mit meistens polarem Sitz in den Bakteroiden bildete, während ein schwächer tingierbares Plasma zurückblieb. Diese Plasmaanhäufung besteht nun nach Hiltner aus verschiedenen Stoffen, zunächst aus einer plasmatischen, lebenden Substanz, die durch Jod im Gegensatz zu dem übrigen Plasma meist gelb gefärbt wird, sowie aus einem anderen, jedenfalls unorganisierten Stoff, der mit Jod eine rotbraune Färbung annimmt. Diese sich rotbraun färbenden Einschlüsse sind schon von verschiedenen Forschern in den Knöllchen beobachtet, so von Frank, der dadurch veranlaßt wurde, die Erbsenknöllchen als dimorph zu bezeichnen. Die Einschlüsse sollen aus einem „wachsartigen“ Stoff bestehen, der in normalen Knöllchen selten zu finden ist, dagegen nach Moeller auch am Ende der Vegetation der Pflanze häufig auftritt. Hiltner gelang es nun zunächst bezüglich des von Frank erwähnten Dimorphismus der Erbsenknöllchen, sowohl an Material aus der Frankschen Sammlung wie auch an Erbsen im Dahlemer Felde den Nachweis zu liefern, daß diese wachsartigen Einschlüsse eine pathogene Erscheinung an der Erbse, die durch einen Pilz verursacht wird und wohl der Grund der Erbsenmüdigkeit ist, als Ursache ihres Entstehens haben. Nach ihm soll der Pilz die Verbindungsbahnen zwischen Knöllchen und Pflanze zerstören, so daß die Pflanze nicht mehr mit Stickstoff ernährt wird, und unter diesen abnormen Verhältnissen sollen sich diese Einschlüsse bilden. Hiltner konnte

1) l. c. p. 244 f.

Zweite Abt. Bd. XI.

in den Knöllchen verdunkelter Rotkleepflanzen ebenfalls diese wachsartigen Körper durch Färbung mit Jod nachweisen. Ebenso gelang es ihm, denselben durch Ausschütteln mit Chloroform zu isolieren und bei einer Untersuchung als stickstofffrei zu finden. Es zeigte sich hierbei aber, daß dieser Körper durch Jod nicht rotbraun, sondern gelb gefärbt wird. Knöllchenschnitte mit dieser wachsartigen Substanz, die sich frisch mit Jod rotbraun färbten, zeigten ferner nach mehrtägigem Ausfaulen (?!) ¹⁾ in Wasser ebenfalls eine reine Gelbfärbung mit Jod. Hiltner schließt deshalb, daß der rotbraun färbbare Körper nicht mit der wachsartigen Substanz identisch ist, sondern vielmehr einen wasserlöslichen Körper darstellt, den er geneigt ist für Glykogen anzusehen. Sicheres läßt sich hierüber wohl noch nicht sagen, da sehr leicht chemische Umsetzungen und andere Komplikationen beim Extrahieren mit Chloroform etc. eingetreten sein können.

Was nun ferner die Aussprossungen des sog. Kernplasmas der Bakteroiden in den kohlenstoffreichen Nährlösungen anbelangt, die Hiltner bei allen Arten von Knöllchenbakterien beobachtete, so hält er dieselben gemäß seiner schon früher ausgesprochenen Anschauung, die auch Hartleb und ebenso Gonnemann in ähnlicher Weise vertreten, für Fruktifikationsorgane der Bakterien. Hiltner war zunächst bestrebt, zu untersuchen, ob diese Aussprossungen auch in den Knöllchen zu finden sind, und es gelang ihm in der Tat, dieselben in den Knöllchen der Soja während des Hungerstadiums dieser Pflanze nachzuweisen, vor Beginn und besonders nach dem Ende dieses Stadiums war dagegen von den Aussprossungen an den Bakteroiden selten etwas wahrzunehmen. Hiltners Ansicht über die Art der Stickstoffassimilation, wobei die erwähnten Beobachtungen zusammenfassend verwertet werden, geht nun dahin, daß die Bakterien in den Knöllchen der Pflanze das Bestreben haben, Sporangien auszubilden, daß sie aber hieran durch die Pflanze verhindert werden, indem diese ihnen dauernd den nötigen Baustoff, der stickstoffhaltig ist, als Nahrung entzieht. Diese Anschauung klingt ganz erklärlich, aber wie soll man sich das Fortnehmen der Baustoffe aus dem Bakteroidenleib von seiten der Pflanze anders vorstellen als durch proteolytische Prozesse, und weshalb dann die Pflanze nicht das gesamte Bakterienplasma aufzulösen im stande sein soll, bleibt unerklärt. Damit wären wir wieder zu der alten Anschauung von der Resorption der Bakterien durch die Pflanze zurückgekehrt. Was nun die Sporangiennatur der beobachteten Plasmaanhäufungen betrifft, so muß zunächst auffallen, daß dieser Vorgang nur in den günstigsten Ernährungsbedingungen in die Erscheinung treten soll, wo die stärkste Vermehrung der Bakterien statthat, dagegen findet sich in Kulturen auf Nährböden mit ungünstigen Lebensbedingungen diese Tendenz zur Sporenbildung nicht. Diese Erscheinung steht mit den bisherigen Erfahrungen über Sporenbildung direkt in Widerspruch. Die bisherigen Beobachtungen lassen als Regel erkennen, daß, je ungünstiger die

1) l. c. p. 253.

Lebensbedingungen sind, desto größer das Bestreben der Sporenbildner ist, durch Ausbildung von Fruktifikationsorganen die Fortpflanzung zu sichern. Vor allem ist Hiltner für seine Behauptung von der Sporangienbildung den einzig exakten Beweis durch Beobachtung des Auskeimens in der feuchten Kammer bis jetzt schuldig geblieben. Beijerinck, Prazmowsky und neuerdings Jakobitz haben Sporenbildung bei den Knöllchenbakterien nicht nachweisen können, und man darf auf die weiteren Ausführungen Hiltners in dieser Richtung gespannt sein. Außerdem sind in Hiltners Ausführungen Angaben über die benutzten Fixationsmethoden zu vermissen, so daß nicht kontrolliert werden kann, ob wir es bei seinen Plasmadifferenzierungen nicht mit einfachen „Kunstprodukten“ zu tun haben. Dieser Verdacht ist um so gerechtfertigter, als die vitale Färbung zu keinem befriedigenden Resultat führte.

Sind die Plasmaanhäufungen keine Kunstprodukte, dann scheint Hiltner die Babes-Ernstschen Körperchen vor sich gehabt zu haben, über deren Wesen heute noch keine bestimmte Erklärung abgegeben werden kann. Einige Forscher halten sie für Zellkerne, andere für sporogene Körper, wieder andere für ergastische Stoffe, d. h. aufgespeicherte Reservestoffe, Sekrete oder schließlich für Exkrete. Indessen scheint man von der Annahme, daß die Körner mit der Sporenbildung in Zusammenhang stehen, ziemlich zurückgekommen zu sein, da diese Körner zunächst in einem Stäbchen nicht isoliert, sondern zu zwei¹⁾ und noch mehreren vorhanden sind, sodann in dem Stäbchen während der Sporenbildung neben dem Sporangium bestehen bleiben und schließlich sich in notorisch asporogenen Bakterien, wie z. B. *Bac. fluorescens liquefaciens* ebenfalls vorfinden. Daß diese Körner bei *Radicicola* nach Hiltner mit Jod rotbraun gefärbt werden, scheint auf Sekrete oder Exkrete hinzudeuten, indessen muß es bei dem mangelnden Tatsachenmaterial und der verwirrenden Deutungsverschiedenheit als müßig betrachtet werden, hierauf näher einzugehen; Sporen sind es jedenfalls bis jetzt noch nicht.

Nachdem von Frank²⁾ auf die Virulenzverhältnisse der Knöllchenbakterien hingewiesen war, hat Hiltner³⁾ den glücklichen Versuch gemacht, diese physiologische Eigenschaft der Bakterien zur Erklärung vieler Beobachtungen heranzuziehen, die sich vorwiegend auf die Verhältnisse der Knöllchen, ihrer Entstehung und Verteilung am Wurzelsystem nach beziehen.

Zunächst komme ich hier auf die Immunitätstheorie Hiltners zu sprechen. Sein Immunitätssatz lautet: „Tätige Knöllchen verleihen der Pflanze Immunität gegen Bakterien von gleichem oder niedrigerem Virulenzgrad, als ihn die in den Knöllchen bereits enthaltenen Bakterien besitzen; nur Bakterien von höherer Virulenz vermögen noch in die Wurzeln einzudringen.“ Durch diesen Satz findet also die gegenseitige Einwirkung der Bak-

1) Wie auch Hiltner angibt. p. 219.

2) Frank, l. c.

3) Hiltner, Arbeiten aus d. biol. Abt. des kais. Gesundheitsamtes. Bd. I. Heft 2.

terien unter sich während der Symbiose mit der Pflanze einen gesetzmäßigen Ausdruck.

Hiltner hat ebenso wie bei seiner Stickstoffassimilationstheorie, verbunden mit hypothetischer Sporenbildung der Knöllchenbakterien, so auch hier einen seltsamen Pfad eingeschlagen, um die vorliegenden Erscheinungen in ein Gesetz zu formulieren. Er will hier die direkte Mitwirkung der Pflanze bei dem Prozeß der Knöllchenbildungen ganz ausschalten. Er meint und sucht dies auch zu beweisen, daß die Bakteroiden in den Knöllchen Stoffe ausscheiden, die von der Pflanzenwurzel aufgenommen und verteilt werden und ein Eindringen neuer, gleich virulenter oder schwächerer Bakterien verhindern. Die Mitwirkung der Pflanze bei den Infektionsvorgängen ist also hiernach nur von untergeordneter Bedeutung, indem hierdurch nur die Verteilung der immunisierenden Bakterienstoffe bewirkt wird.

Es ist unwahrscheinlich, daß die Verhältnisse so liegen, wie Hiltner es will, schon deswegen unwahrscheinlich zunächst, weil, wie ich oben schon als befremdlich hinstellte, die direkte Einwirkung der Pflanze bei diesem für ihre Entwicklung außerordentlich wichtigen Vorgang vollkommen ausgeschaltet ist. Außerdem gibt es aber Erscheinungen, auf die ich weiter unten zurückkomme, die andererseits zu der Annahme zwingen, daß gerade die Pflanze bei der Immunisierung eine entscheidende, ja die allein maßgebende Rolle spielt. Diese Erscheinungen lassen sich mit dem Immunitätssatz in der Hiltnerschen Fassung nur äußerst schwer oder wohl überhaupt nicht vereinbaren.

Ich muß nun vielmehr, um eine genügende Erklärung für die diesbezüglichen Tatsachen anführen zu können, auf das Kampfverhältnis zwischen Pflanze und Bakterien zurückgreifen, auf das Nobbe und Hiltner mit diesem Ausdruck wohl zuerst hingewiesen haben. Auch neuerdings noch hält Hiltner an dem Bestehen einer Beziehung zwischen den Abwehrstoffen der Pflanze und den Infektionsstoffen der Bakterien neben seiner Immunitätstheorie fest.

Diese Relationen nun sind vollkommen denen analog, die wir bei den pathogenen Bakterien und ihren Wirtskörpern bereits kennen; überhaupt zeigen die Verhältnisse der Knöllchenbakteriensymbiose trotz des Ausdruckes „Symbiose“ eine sehr markante Analogie zu den Verhältnissen der Infektionskrankheiten, mit dem einzigen Unterschied, daß im ersten Fall der Wirt, die Pflanze, aus dem Kampf Nutzen zu ziehen weiß durch Aneignung stickstoffhaltiger Produkte, wodurch der Ausdruck „Symbiose“ gerechtfertigt erscheint. Es ist demnach auch hier, bei der Pflanze, Produktion von Abwehrstoffen, Antikörpern, vorhanden, ebenso wie die Bakterien Infektionsstoffe, Toxine, bilden. Ebenso ist auch hier die Produktion der Antikörper neben der Individualität von der Ernährung der Pflanze abhängig und dieser parallel gehend. Die Infektionsgefahr wird also für die Pflanze größer bei geschwächter Konstitution, andererseits geringer bei günstiger Ernährung und dadurch bedingter Kräftigung. Erscheinungen, die zu dieser Annahme führen, muß ich später bringen.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Gips als ammoniakbindende Substanz bei der Verrottung des Stallmistes.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der kaiserlich russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von S. A. Sewerin.

Bei der wirtschaftlichen Aufbewahrung des Stallmistes ist es die Hauptsorge für den Landwirt, den in der Wirtschaft angehäuften Mist vor der Ausfuhr ins Feld derartig vorzubereiten und zu dem Verrottungsgrade zu bringen, bei welchem er schon in dem ersten Jahr seiner Einführung in den Boden einen merkbaren Düngungseffekt aufweisen könnte. Dabei aber ist es wesentlich wichtig, eine Bedingung zu beobachten, und zwar daß während dieser Vorbereitungsperiode der Stallmist in den Zersetzungsprodukten ein mögliches Minimum seiner wertvollsten Bestandteile einbüßen möchte, was für den Landwirt der schwierigste Teil der Aufgabe ist. Der wertvollste und am leichtesten verloren gehende Bestandteil des Stallmistes ist der Stickstoff. Stickstoff geht aus dem Stallmist, abgesehen von der Auslaugung des Mistes, die leicht durch Anlegung eines zweckmäßigen Mistbehälters zu beseitigen ist, auch durch Entweichung in Gestalt freien N und NH_3 verloren. Dieser letztere Weg des Stickstoffverlustes aus dem Stallmiste hatte bereits lange die Aufmerksamkeit der Agronomen behufs Erfindung von Mitteln zur Beseitigung dieses Uebelstandes auf sich gelenkt.

Wir interessieren uns hier hauptsächlich für den Stickstoffverlust in Form von Ammoniakstickstoff, denn in dieser Form geht der größte Teil des Gesamtstickstoffes des Mistes verloren. Mittel zur Verhütung des Verlustes von Ammoniakstickstoff aus dem Stallmiste sind nicht wenige in Vorschlag gebracht worden, so z. B. Schwefelsäure, Salzsäure, Superphosphat, Eisenvitriol, Gips, Kalk, Kainit etc. Der Grundgedanke bei Verwendung aller dieser Mittel besteht darin, daß dem Stallmiste diverse chemische Substanzen zugesetzt werden, welche vermöge ihrer chemischen Natur überhaupt den ganzen Zersetzungsprozeß der gesamten organischen Masse des Mistes herabsetzen, oder aber ganz ohne Beeinflussung des Zersetzungsprozesses an und für sich, oder nur in geringem Grade, bloß die flüchtigen Ammoniaksalze durch Ueberführung in mehr konstante Verbindungen binden sollen. Eigentlich können für landwirtschaftliche Zwecke die Substanzen der ersten Gruppe, d. h. diejenigen, welche den Verrottungsprozeß des Stallmistes im allgemeinen hintanhaltend, nach unserer Meinung wohl kaum irgend ein Interesse darbieten. Durch Verwendung dieser Substanzen wird in die landwirtschaftliche Praxis ein dem Landwirt vollständig fremdes Prinzip der Mistkonservierung eingeführt, denn die Aufgabe des Landwirtes ist eine ganz entgegengesetzte — nicht zu konservieren, sondern die Verrottung des Stallmistes vor der Aus-

fuhr ins Feld bis zur gehörigen Reife zu fördern. Verwendet man diese Substanzen vom ersten Anfang der Mistverrottung an, so heißt es, damit das ganze Bakterienleben des Stallmistes hintanhaltend, verwendet man sie nach Erreichung der für den Landwirt nötigen Reife des Mistes, so wird es, was Bindung des Ammoniakstickstoffes anbelangt, eine verspätete Maßregel sein. Wir übergehen eine Reihe anderer Erwägungen, welche der Einführung energisch wirkender konservierender Mittel in die landwirtschaftliche Praxis im Wege stehen.

Das ist der Grund, weswegen die Substanzen der anderen Gruppe große Beachtung verlieren, d. h. diejenigen, welche, ohne den allgemeinen Verrottungsprozeß des Misthaufens merklich zu beeinflussen, die Eigenschaft besitzen, flüchtige Ammoniaksalze zu binden und dadurch einer Herabsetzung des Dungwertes des Stallmistes vorzubeugen. Wir unterlassen es hier, sämtliche zu diesem Zweck gebräuchlichen chemischen Stoffe einer Wertschätzung zu unterziehen, sondern werden bloß an einem von ihnen stehen bleiben, und zwar am Gips und hauptsächlich deswegen, weil die Rolle des Gipses als ammoniakbildende Substanz bis heute noch nicht endgültig festgestellt ist, trotzdem es eins von den in der Landwirtschaft am längsten bekannten Präparaten ist. Die Bestreuung des Stallmistes mit Gips wurde anfangs auf Grund der rein theoretischen Annahme empfohlen, daß das in dem Misthaufen sich bildende Ammonkarbonat bei der Umsetzungsreaktion mit Gips das mehr konstante Ammonsulfat und Kalkkarbonat bilden wird, und daß auf diese Weise der Ammoniakverlust des Stallmistes beseitigt werden wird. Bereits zu Anfang der 60er Jahre des vergangenen Jahrhunderts lehrten Gruwen und Heinrich, daß durch Bestreuung des Stallmistes mit Gips eine vollkommene Umsetzung zwischen Ammonkarbonat und Kalksulfat erreicht wird. Doch trat im Jahre 1884 der französische Gelehrte Joulie mit einer ganz entgegengesetzten Behauptung hervor; aus seinen Versuchen erwies es sich, daß Gips nicht nur den Verbleib des Ammoniakstickstoffes im Miste nicht fördert, sondern im Gegenteil den Stickstoffverlust steigert, und Joulie sagt geradeaus, daß Gips aus der Liste derjenigen Mittel, welchen man einen günstigen Einfluß auf die Konservierung des Ammoniakstickstoffes im Miste zuschreibt, gestrichen werden muß. Eine ganze Reihe von Forschern, wie Groschke, Holdefleiss, Wollny, Müntz und Girard, Stutzer, Déhérain, Immendorf, Krause, Passerini, Pfeiffer u. a. sind entweder der Ansicht, daß dem Gips im Misthaufen gar keine ammoniakbindende Eigenschaft zukomme, oder wenn sie es auch zugeben, so halten sie diese Eigenschaft in Anbetracht ihrer quantitativ schwach sich äußernden Wirkung für praktische Zwecke als wertlos. Vogel und Ditzel konstatieren dagegen die Eigenschaft des Gipses, den Stickstoffverlust merkbar herabzusetzen. Was den Einfluß des Gipses auf den allgemeinen Verrottungsprozeß des Mistes anbelangt, so will die Mehrzahl der Forscher, wie auch zu erwarten war, seine konservierende Eigenschaft nicht anerkennen, und einzelne schreiben ihm eine ent-

gegengesetzte Wirkung, d. h. die Eigenschaft, die Verrottung des Mistes zu beschleunigen, zu (doch läßt sich nicht vermöge einer direkten Einwirkung des Gipses es annehmen, daß hier das bei der Reaktion entstehende Kalkkarbonat im Spiel sei), andere Forscher sprechen überhaupt dem Gips irgend welche Wirkung ab.

Nun wollen wir unsere eigenen Versuche, welche wir ebenfalls behufs einer Klärung der Rolle des Gipses bei der Zersetzung des Stallmistes angestellt haben, beschreiben; Die Anordnung dieser Versuche war dieselbe, wie die in unserer früheren Arbeit „Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren Rolle bei der Zersetzung desselben“¹⁾ ausgearbeitete. Im allgemeinen sind die Versuchsbedingungen folgende: Durch eine Glasflasche, welche die zu prüfende Mistportion enthielt, wird ununterbrochen, während 2 bis 3 Monaten, ein Luftstrom geleitet, wobei die Luft nicht durch den Mist, sondern oberhalb desselben ihren Weg nimmt, so daß die Durchlüftung lediglich eine oberflächliche war. Der aus der Flasche austretende Luftstrom hinterläßt das in ihm enthaltene NH_3 in 3 U-förmigen Röhren mit titrierter und mit einigen Tropfen Rosolsäure gefärbter Schwefelsäure, auf diese folgen kleine Apparate zur Absorption der Kohlensäure; vor Eintritt in die den Mist enthaltende Flasche passiert die Luft einen Kolben mit Lauge zur Absorption ihrer CO_2 , einen Kolben mit Säure zur Absorption von NH_3 und einen dritten Kolben mit Wasser, um den Mist vor Austrocknung zu bewahren. Die Mistversuchsportionen bildeten stets ein und dasselbe Gemisch, und zwar 150,0 g frischen Pferdekotes, 15,0 g feingeschnittenen Strohes, 50 ccm ganz frischen Pferdeharns und 50 ccm Wasser; während der ganzen Dauer des Versuches wird die Temperatur des Mistes konstant bei 30°C gehalten. Die Absorptionsapparate für CO_2 wurden alle 5 Tage gewogen, falls aber die Lauge früher mit CO_2 gesättigt war, wie es sehr häufig vorkam, so wurde die Kalilauge durch eine frische ersetzt, doch die erhaltenen Gewichtszunahmen auf 5tägige Intervalle summiert. Auf diese Weise gaben uns die 5tägigen CO_2 -Gewichtszunahmen die Möglichkeit, Schritt für Schritt die Zersetzungsenergie der organischen Substanz des Mistes zu verfolgen.

Die Bestimmung des NH_3 -Titers wurde in unbestimmten Zeitintervallen ausgeführt, je nachdem in dem ersten U-förmigen Röhrchen (welches sodann seine gelbe Farbe in eine rosa umänderte) Sättigung mit titrierter H_2SO_4 eintrat. Alles in allem haben wir 8 Versuche angestellt; diese Versuche wurden paarweise ausgeführt, d. h. es wurden zu gleicher Zeit zwei parallele Versuche — einer mit, der andere ohne Gips, geführt. Man muß darum annehmen, daß die Mistportionen in jedem Versuchspaar, was chemische Zusammensetzung anbelangt, sehr identisch waren; der von einem Pferde zu dem Versuche genommene Kot wurde zuvor verrieben und sorgfältig durchgemischt und dann erst in 2 Versuchsportionen geteilt; ebenso wurde das Stroh behandelt, Harn wurde auch von einem Pferde genommen. Es ist leicht verständlich, daß unter

1) Centralblatt für Bakteriologie. 1895. No. 3. 22/23. 1897. No. 23/24. 1901. No. 11.

solchen Umständen die Differenz in der chemischen Zusammensetzung der Mistportionen jedes Versuchspaares zu einem möglichen Minimum gebracht war. Angesichts dessen, daß die Bestandteile der Mistportionen ganz frisch genommen wurden, ist es verständlich, daß unsere Versuche die ersten Verrottungsstadien der organischen Substanz des Stallmistes konstatieren. Gips wurde in den Versuchen, wo er mitbeteiligt war, in einer Menge von 10,0 g, d. h. ca. 4 Proz. des Gesamtgewichtes der Versuchsportionen des Mistes zugesetzt.

Die beiden Versuche der ersten Tabelle mit und ohne Gips wurden am 22. Dezember 1898 angestellt; der Stallmist wurde nicht sterilisiert und es wurden keine Impfungen unternommen; die Versuche dauerten 85 Tage. Die Resultate in Ziffern sind in Tabelle I verzeichnet.

I.		
Datum der Gewichtsbestimmung	1. Versuch mit Gips	2. Versuch ohne Gips
Menge der ausgeschiedenen CO ₂		
	g	g
27. Dezember	2,6876	3,1458
1. Januar	2,3784	2,9968
6. „	2,3258	2,9416
11. „	2,3814	2,9302
16. „	2,5642	3,8464
21. „	2,8410	3,5040
Summa in 30 Tagen	15,1784	19,3678
26. Januar	2,7912	3,5632
31. „	3,1278	2,9082
5. Februar	2,6246	2,5730
10. „	2,4860	2,5362
15. „	2,3068	1,8698
20. „	1,7084	1,8814
Summa in 30 Tagen	15,0448	15,3918
25. Februar	1,3928	2,2570
2. März	1,4602	2,2060
7. „	1,2576	2,3488
12. „	1,0766	1,7262
17. „	1,0682	1,7430
Summa in 25 Tagen	6,2554	10,2810
„ „ 85 Versuchstagen	36,4786	45,0406
Während des ganzen Versuchs NH ₃ ausgeschieden	0	0

Aus den angegebenen Ziffern ersieht man, daß die Oxydation der organischen Substanz des Mistes sehr energisch vor sich ging, doch war sie in dem Versuche mit Gips schwächer, als in dem ohne Gips, und recht merkbar, so daß die Differenz in dem ausgeschiedenen CO₂-Quantum bis auf 9,0 g stieg. Bei beiden Versuchen ist der Oxydationsprozeß am stärksten im ersten Monat, im zweiten wird er etwas schwächer nur bei dem Versuch ohne Gips.

bei dem mit Gips aber bleibt er auf einer Höhe, im dritten Monat fährt der Oxydationsprozeß fort, weiter an Stärke zu verlieren — nicht besonders rapid bei dem Versuche ohne Gips und sehr rapid bei dem mit Gips. Ammoniak wurde, so sonderbar es auch ist, weder bei dem einen noch bei dem anderen Versuche ausgeschieden. Nach Schluß der Versuche hatten die Mistportionen gar keinen Ammoniakgeruch, waren etwas dunkler geworden und eingetrocknet; überhaupt war ihr Aeüßeres, trotz den großen Mengen ausgeschiedener CO_2 , durchaus kein derartiges, daß von einer mehr oder weniger tiefen Verrottung des Stallmistes die Rede sein könnte; die Mistportion ohne Gips war etwas dunkler und feuchter als die mit Gips. Vor den Versuchen war die Reaktion beider Mistportionen eine sehr schwach saure, nach den Versuchen eine neutrale. Auf Nesslerisches Reaktiv reagierten Mistextrakte nach Schluß der Versuche nicht bei dem Versuch ohne Gips, während bei dem mit Gips ein ganz geringes ziegelrotes Sediment, ungefähr dasselbe wie es bei Prüfung des Mistextraktes vor dem Versuche erhalten wurde, ausfiel. Nitratreaktion zeigten beide Mistportionen weder vor noch nach den Versuchen. Zu alledem Gesagten muß noch folgendes hinzugefügt werden: Im Laufe der Versuche entwickelte sich auf beiden Mistportionen äußerst üppig eine Vegetation von Schimmelpilzen (von uns nicht näher untersucht, doch sichtbar aus der *Oidium*-Art), derartig üppig, daß die ganze Oberfläche der Mistportionen durchweg von einem weißen Belag überzogen war. Der Zeitpunkt, seit dem die Schimmelbildung mehr oder weniger merkbar sich zu entwickeln begann, ist uns entgangen, weil die Glasgefäße mit dem Mist während der ganzen Dauer der Versuche gewöhnlich mit schwarzem Zeug bedeckt sind; zum ersten Male bemerkten wir die Schimmelbildung erst nach Verlauf eines Monats nach Beginn des Versuches, zu dieser Zeit war die Oberfläche des Mistes ohne Gips bereits durchweg von einem weißen Schimmelrasen bedeckt, während auf dem Miste mit Gips der Schimmel bloß als insuläre, vereinzelte Auflagerung zu sehen war, doch nach ca. 10 Tagen war auch diese Portion durchweg von einem Rasen überzogen.

Es fragt sich nun, was aus dem Ammoniakstickstoff in den Versuchsportionen des Stallmistes geworden ist? Vor dem Versuche enthielten unsere Mistportionen als ganz frische gar kein Ammoniak (oder wenn ja, doch sehr wenig), aber im Laufe des Versuches mußte es zweifellos als Resultat ammoniakalischer Gärung erscheinen, und nichtsdestoweniger war es weder im Miste, noch in seinen gasförmigen Produkten vorhanden. Die wahrscheinlichste Hypothese ist diejenige, daß das Ammoniak nitrifiziert wurde und daß danach die Nitrate im Hinblick darauf, daß sie im Miste nach Schluß des Versuches nicht konstatiert worden waren, wohl unter Entbindung freien Stickstoffes denitrifiziert wurden. Eine andere Erklärung ist die, daß der entwickelte Ammoniakstickstoff von der Schimmelvegetation in Form von Ammoniaksalzen, oder vielleicht bereits als Nitrate, wenn letztere sich bildeten, ausgenutzt wurde; in letzterem Falle diese nicht zur Denitrifikation kommen lassend.

Es ist möglich und am meisten wahrscheinlich, daß alle diese Prozesse gemeinschaftlich vor sich gingen. Charakteristisch ist es hier, daß es nicht einem einzigen NH_3 -Molekül gelungen ist, mit dem durchgeleiteten Luftstrom zu entweichen. Es wäre ja anzunehmen, daß NH_3 im Luftstrom wenigstens im ersten Verrottungsstadium des Stallmistes, ca. 15—20 Tage nach Beginn des Versuches, wo die ammoniakalische Harnsäuregärung allein noch ihren Höhepunkt erreicht haben muß, hätte auftreten müssen. Zu dieser Zeit war die Schimmelbildung natürlich noch sehr unbedeutend, besonders auf dem Mist mit Gips, ebenso konnte wahrscheinlich auch keine Nitrifikation stattfinden, und nichtsdestoweniger wurde, wie gesagt, NH_3 gar nicht ausgeschieden. In den ersten Verrottungsstadien war Ammonkarbonat als solches sicher im Mist vorhanden, doch konnte es, bei reichlicher CO_2 -Entwicklung zu dieser Zeit, wie aus den Untersuchungen von Déhérais hervorgeht, kein NH_3 entbinden, in der Folge aber, bei Abnahme der ausgeschiedenen Menge von CO_2 , wurde Ammoniak vermöge biologischer Prozesse, welche es in andere Stickstoffverbindungen überführten, nicht ausgeschieden.

Was das Äußere der Mistportionen nach dem Versuch anbelangt, so waren beide Portionen, wie oben bereits angedeutet wurde, etwas dunkler geworden und ein wenig eingetrocknet, der Mist ohne Gips war dunkler und feuchter als der mit Gips; wässrige Extrakte waren bei den Portionen nicht dunkel zu nennen, eher von hellgraubrauner Farbe, ließen sich verhältnismäßig leicht filtrieren, das Filtrat war hellgelb, leicht getrübt, wobei bei dem Mist ohne Gips dieses Extrakt dunkler war, als bei dem mit Gips. Alle angeführten Ergebnisse dieser Versuche sind leider derartige, daß sie die Antwort auf die Hauptfrage, der zuliebe diese Versuche angestellt waren — und zwar, worin sich hier der Einfluß des Gipses geäußert hat, schuldig bleiben. Wenn man als Kriterien das Aussehen der Versuchsportionen des Mistes und die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure benutzen würde, so müßte man konstatieren, daß der Gips die Rolle eines Konservierungsmittels gespielt hat, doch liegt es hier sichtlich nicht am Gipse, sondern an den abnormen Bedingungen, unter welchen sich die Mistportionen infolge der starken und nicht gleichzeitigen Schimmelbildung befanden. Die Ernährung des üppig ausgewachsenen Schimmelrasens und der schroffe Wechsel der Durchlüftungsbedingungen der Mistportionen mußten den normalen Verrottungsprozeß des Mistes in beiden Portionen merkbar verändern, das ist der Grund, weswegen die Ergebnisse dieser Versuche, als bei außergewöhnlichen Verhältnissen erzielte, nicht für eine mehr oder weniger bestimmte Schlußfolgerung als zuverlässig gelten können. Diese Ergebnisse können auch natürlich, angesichts des eben Gesagten, nicht als Material zum Vergleich mit den nachfolgenden Versuchen dienen. In Bezug auf NH_3 bleiben diese Versuche auch die Antwort schuldig, denn in beiden wurde Ammoniak gar nicht ausgeschieden. Mit einem Wort, in diesen Versuchen war die Rolle des Gipses, nach unserer Meinung, durch die üppige Schimmelbildung auf dem Mist, welche

den normalen Gang der bekanntlich unter Beteiligung vornehmlich von Bakterien, nicht von Schimmelpilzen, vor sich gehenden Mistverrottung veränderte, vertuscht.

In der folgenden Tabelle II sind 2 Versuche gleichfalls mit nicht sterilisiertem Stallmist verzeichnet, aber dabei wurden die Mistportionen noch mit Reinkulturen von 4 von uns aus Pferdekot isolierten Mikroben geimpft, und zwar des allgemein bekannten *B. pyocyaneus* und *B. indicus* und dann zweier gleichfalls stäbchenförmiger Mikroorganismen, welche wir in den Arbeiten „Die im Mist vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben“ beschrieben haben sub No. 2 und 4.

Diese Species wurde deswegen gewählt, weil sie nach unseren früheren Untersuchungen alle die Fähigkeit besitzen, im Stallmiste ammoniakalische Harngärung zu erzeugen, so daß hinsichtlich der Ergebnisse der Versuche bereits kein Zweifel bezüglich der Anwesenheit von ammoniakbildenden Mikroben in den Mistportionen obwalten konnte. Die Impfungen wurden mit frischen Bouillonkulturen, mit je $\frac{1}{2}$ ccm jeder Kultur ausgeführt. Die Versuche wurden angestellt am 31. August 1898. Der ganze Unterschied in den beiden Versuchen bestand darin, daß eine Mistportion mit Gips, die andere ohne Gips war. Das Resultat dieses Versuches ist folgendes:

II.

Datum der Gewichtsbestimmung	3. Versuch mit Gips	4. Versuch ohne Gips
	CO ₂ ausgeschieden	
	g	g
5. September	4,5480	2,8890
10. "	4,0110	2,5854
15. "	2,3180	4,5984
20. "	1,8686	2,2476
25. "	2,5194	2,5514
30. "	1,7114	2,3828
Summa in 30 Tagen	16,9664	17,2556
5. Oktober	1,6172	1,7284
10. "	1,9686	1,4640
15. "	1,8850	1,6246
20. "	2,0368	1,4362
25. "	1,0096	1,4972
30. "	1,1350	1,1414
Summa in 30 Tagen	9,7122	8,9818
4. November	1,4522	0,5038
9. "	1,5304	0,0377
14. "	2,2484	1,0540
19. "	1,3454	0,7128
24. "	1,4234	0,5368
29. "	1,5860	2,0050
Summa in 30 Tagen	9,6858	4,7400
" " 90 Versuchstagen	36,3644	30,8874
Während des ganzen Versuchs NH ₃ ausgeschieden	0	0,0739

Die Kohlensäuremengen legen ein Zeugnis davon ab, daß der Verrottungsprozeß des Mistes sehr energisch vor sich ging. Die größte Zersetzungsenergie fiel auf den ersten Monat, im zweiten verringerte sich die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure um die Hälfte für beide Versuchsportionen des Mistes, im dritten Monat trat in dem Versuche ohne Gips eine weitere, abermals bedeutende Herabsetzung der CO_2 -Ausscheidung ein, während in dem Versuche mit Gips dasselbe CO_2 -Quantum ausgeschieden wurde, wie im zweiten Monat. Während der ganzen 90 Versuchstage war das ausgeschiedene CO_2 -Quantum in dem Versuche mit Gips ungefähr um 6,0 g oder um 20 Proz. größer, als in dem ohne Gips. Was NH_3 anbelangt, so wurde es in dem Versuche mit Gips ganz und gar nicht, während in dem ohne Gips eine recht bedeutende Menge desselben, und zwar 0,073 g ausgeschieden wurde.

In Bezug auf das Äußere des Stallmistes nach Schluß der Versuche hatten beide Portionen scheinbar denselben Feuchtigkeitsgrad, wie vor den Versuchen, beide waren merklich dunkler geworden, wenn auch der Mist ohne Gips bedeutend dunkler war, als der mit Gips, an letzterem war gar kein ammoniakalischer Geruch zu spüren, während der Mist ohne Gips einen stechenden, ammoniakalischen Geruch verbreitete. Ein wässriger Auszug aus dem Miste ohne Gips war viel dunkler als bei dem mit Gips; ersterer ging schneller durch das Filter, als letzterer, sein Filtrat war ganz durchsichtig, von dunkelbrauner Farbe, hatte stark alkalische Reaktion, gab mit dem Nesslerischen Reaktiv einen reichlichen, ziegelroten Niederschlag. Das Filtrat des Auszuges aus dem Miste mit Gips war auch durchsichtig, aber viel heller, von neutraler Reaktion, gab mit dem Nesslerischen Reaktiv gleichfalls einen reichlichen ziegelroten Niederschlag; auf Nitrat reagierte weder die eine noch die andere Mistportion. Jene üppige Schimmelbildung, welche bei den ersten 2 Versuchen beobachtet wurde, fehlte hier; freilich sah man auch hier auf beiden Portionen an vereinzeltten Punkten Schimmel wachsen, doch sehr schwach und dabei in vereinzeltten, kleinen, insulären Rasen. Dieser letztere Umstand gestattet uns, diesen Versuch als einen nicht unter den Ausnahmebedingungen der ersten 2 Versuche abgelaufenen zu betrachten.

Gestützt auf die angeführten Ergebnisse, läßt es sich unschwer einsehen, daß der Gips den Oxydationsprozeß des Stallmistes einigermaßen verstärkte, in Bezug auf das Ammoniak aber war die Rolle des Gipses klar; es absorbierte vollständig alles gebildete Ammoniak, dessen Anwesenheit im Miste mit Hilfe des Nesslerischen Reaktivs konstatiert worden war.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment.

By **Mary Hefferan**, Ph. D.,

Bacteriological Laboratory, the University of Chicago, U. S. A.

(Fortsetzung.)

My results disagree with those of Scheurlen and of Ritter. In standard bouillon, freed from muscle sugar by Theobald Smith's method, neutralized by NaOH instead of by Na_2CO_3 , and then having added to it $1\frac{1}{2}\%$ dextrose, *B. prodigiosus* I produced at the end of a week a bubble of gas in the fermentation tube. Contrary to Scheurlen's observation, this did not remain stationary but increased daily.

1) 7th day 4 mm	2) 7th day bubble
8th " 7 "	8th " 12 mm
10th " 5 "	10th " 19 "
12th " 5 "	11th " 9 "
17th " 5 "	31 mm 34,5 %
19th " 0 "	
26 mm 34,5 %	

All of the gas was absorbed by NaOH, showing that the gas formed was CO_2 . Fermentation of the carbohydrate must have taken place, for in this case no sodium carbonate had been added to the medium, from which succinic acid could set CO_2 free. The end reaction of the medium was acid to litmus.

In lactose and sucrose bouillon no gas was produced, nor did any appear in asparagin sulfate phosphate solution to which 2 % dextrose was added.

Oxygen relations. Liborius says (loc. cit. p. 172) that such facultative anaerobes as *Bac. crassus sputig*, *Bac. pneumoniae*, and *Proteus vulgaris*, which possess the power to ferment sugar, do this equally well in the presence or in the absence of oxygen. "Der *Bac. prodigiosus* bietet den einzigen Ausnahmefall, daß Gärung nur in den sauerstofffreien Kulturen eintritt; aber auch hier ist nicht etwa die Gärung ein Mittel, dessen sich der Pilz bedient, um bei dem Sauerstoffausschluß leben und wachsen zu können, sondern er vermag ebensowohl in luft-freiem Raum zu gedeihen, wenn gar kein gärfähiges Material in Nährsubstrat vorhanden ist." My results on anaerobiosis of *B. prodigiosus* differ from those of Liborius and agree with those of Ritter. In sugar bouillon *B. prodigiosus* grows, without pigment, in the absence of oxygen. In sugar free bouillon no growth takes place, although upon admission of air after fifteen or twenty days development will proceed. Liborius' results can be explained by the probable presence of muscle sugar in his so-called sugarfree media. As I have shown above, absence of oxygen is not necessary for gas production.

Temperature relations. *B. prodigiosus* develops at $37\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$, but without pigment production, which is impeded at a temperature of 35° . Development is prevented by a temperature of 42°C .

Nitrate reduction. *B. prodigiosus*, when grown in nitrate solution, produces a marked reduction of nitrates into nitrites. Grown in the fermentation tube, in sugarfree bouillon to which 1 % KNO_3 has been added, further reduction is shown by the appearance of gas bubbles at the end of the week.

Odor. The cultures of *B. prodigiosus* are characterized by a strong odor of trimethylamine, although Scheurlen states that this substance is not formed. It has also been stated that the odor is absent in colorless races (Schottelius). It is absent in non-proteid media.

B. prodigiosus II—VIII.

Seven so called *B. prodigiosus* cultures were obtained from various sources (cf. prefatory list) for comparison with *B. prodigiosus* I. Cultures II and III agreed with the type in all respects and were probably derived from it. *B. prodigiosus* IV, VI and VII were vigorous cultures showing characteristic liquefaction of gelatine, coagulation of milk, red pigment with green lustre on agar and potato etc., but causing gas evolution in sucrose as well as in dextrose bouillon. Agar colonies of *B. prodigiosus* VII were sometimes spreading and proteus-like. *B. prodigiosus* V and VIII gave a less brilliant pigment of a violet red color without metallic lustre. No. V produced a heavy orange red membrane-like pellicle in sugar free bouillon, liquefied gelatine more slowly, beginning with a cup-like depression, coagulated milk only in 72 hours, but showed gas bubbles in dextrose, sucrose and even in lactose fermentation tubes sooner than any other *Prodigiosus* culture, i. e. in 48 hours. *B. prodigiosus* VIII produced a viscid growth in ordinary media, which formed long threads when touched with the needle. It coagulated milk in 48 hours and liquefied gelatine rapidly, but produced no gas in sugar bouillon.

B. ruber indicus (Koch, 50).

Isolated by Koch in India from the stomach of an ape, and, accord to Kruse (52), again found by Pasquale in Massua. I was unable to obtain the descriptions of either of these investigators, but that of Fraenkel (51) must correspond closely to the original, since he relates how the organism was sent to the Berlin Laboratory by Koch, between two pieces of filter paper in a letter. It was subjected to all the fumigation which the sanitary police deemed necessary for documents leaving a cholera country, was "durchlocht, gechlort und geschwefelt", but survived. Fraenkel states that it differed from *B. prodigiosus* in developing pigment at 37° , and in its toxicity for guinea pigs and rabbits.

My two cultures, although evidently distinct for several years

(cf. prefatory list), were alike in every respect. They differed from the *Prodigiosus* type as follows:

Gelatine stab, the liquefied portion colored red only at the surface. Agar, colonies pink in 72 hours, 3 mm in diameter, edges slightly serrate, later spreading and red with green iridescence. On slant agar and potato, pigment production usually poor, growth luxuriant but dirty white. Unlike any other of the red forms, *B. ruber indicus* produces pigment more readily on alkaline than on acid or neutral agar (cf. section on special media). Bouillon, pellicle and sediment usually white, but in a peptone and water solution vivid red pigment is formed. Milk, coagulum completely peptonized in 10 days at 37° C. Gas, all CO₂, is formed from sucrose as well as from dextrose bouillon, but none from lactose. Development with pigment takes place at 37° C. Nitrate, reduced to nitrite and further to free nitrogen or ammonia. Odor, not characteristic.

B. plymouthis (Fischer, 54).

Isolated from water and described by Fischer (1887). The complete description is as follows: — (Ein) "beweglich(er) Bacillus, den ich in der Wasserleitung von Plymouth entnommenem Trinkwasser fand und der sich nicht nur durch seine Gestalt (kleine, dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden, kurze Fäden bildend), sowie durch die karmoisinrote Farbe des Pigments von den bisher bekannten, einen roten Farbstoff bildenden Bakterien (*Micrococcus prodigiosus*, *Bacillus ruber indicus* Koch, und *Bacillus ruber* Frank) unterscheidet, sondern auch durch eine stark fadenziehende Beschaffenheit der Kulturen, sowie durch lebhaft Gasproduktion gut charakterisiert ist." Voges (55, 1893) also made some observations on this form, which my results confirm and amplify.

The pigment formed by *B. plymouthis* on ordinary media could be distinguished from that of *B. prodigiosus* only by its less vivid color and tendency to deteriorate into a violet pink. Freshly rejuvenated cultures sometimes showed metallic lustre on agar but, contrary to Voges observations, not on potato. The "fadenziehende" character, mentioned above, seemed constant in *B. plymouthis* I during two years' observation, after which it disappeared. This character also appeared in a culture of *B. prodigiosus* I, and is present in *B. prodigiosus* VIII (cf. section on discontinuous variation). The main points of distinction between the *Prodigiosus* type and *B. plymouthis* are (1) slower liquefaction of gelatine beginning with a cupshaped depression (cf. *B. prod.* V), (2) a vigorous (contrary to Voges) production of gas, 70—78 % of it CO₂, in dextrose, lactose and sucrose bouillon. Gas, 42 % of it CO₂, is also formed in a standard asparagin sugar solution. Cultures of *B. plymouthis* I have a strong fecal odor.

B. kiliensis (Breunig), *B. ruber balticus* (Kruse).

Isolated from water and described by Breunig (1887, 56).

A culture from Král under the name *B. ruber balticus* corresponds to the description of Breunig and to that of Laurent (57), who worked on the variability of the "Bacille rouge de Kiel". A second culture, *B. kiliensis*, was atypical only in lack of the characteristic pigment which was revived on special media to the violet red color without the usual green lustre. These cultures differed from *B. prodigiosus* as follows:

Morphologically larger, rodlets of a young potato culture 2,5—5 μ in length, 0,6—0,8 μ in diameter; rodlets from an old potato culture may reach 8,0 μ in length. Motility appears in 4 hours after inoculation on potato at 35° C, in 24 hours at room temperature. Gelatine is rapidly liquefied, with a thick orange red surface pellicle. Breunig described the growth on potato as at first sealingwax red and later like that of *B. prodigiosus*. My cultures showed in 24 hours a slight growth of a red violet color, which became luxuriant and darker until, in 10 days, it was heavy, corrugated, and looked like, iron rust. Green lustre is often seen. Bouillon cloudy; thick orange red pellicle, and red sediment. The production of gas by this form, so far as I can find, has not been previously determined. It occurs readily in dextrose, lactose, and sucrose bouillon, and unlike that of the forms so far described, is only in small part (20—28 %) CO₂. In standard asparagin solution with 1,0 % dextrose, gas to 14,3 % of the tube length was formed, none of it CO₂. Development with pigment occurs at 37° C. The pigment is violet red and lacks the orange red surface growth seen at room temperature. Nitrates are reduced to free gas. Odor not characteristic.

B. miniaceus (Zimmermann).

Isolated in 1889 from water, by Zimmermann (59), who has suggested that the organism seems identical with Dowdeswell's *B. rosaceus metalloides*. Zimmermann described it, however, and gave it the above name. Migula, commenting on this form, said: "Zimmermanns Vermutung, daß diese Art identisch mit *B. rosaceus metalloides* ist, dürfte nicht richtig sein. Er schließt sich eher an den Kieler Bacillus an."

Hoagland Laboratory, Brooklyn, furnished a culture, isolated from water, which seemed identical with the *B. miniaceus* from Král, except for a tendency to lose power of pigment production. A second culture from Hoagland Laboratory, evidently identical with the first, came into my hands as "*B. rubrus*", was colorless, and could not be made to regain the chromogenic power. This culture produced the typical amount of gas, 40—45 %.

My cultures of *B. miniaceus* are more like *B. plymouthisensis* than like *B. kiliensis*. Contrary to Zimmermann, I find the bacillus motile in young cultures. Liquefaction of gelatine, slower than *B. plymouthisensis*, but not so slow as stated by Zimmermann, i. e. begins within 5 days, and is complete in three or four weeks. The liquid is red. Potato and agar, like *B. plymouthisensis*, metallic lustre rarely seen and only on

glucose agar. Gas production like *B. plymouthis*. Nitrates reduced to nitrites only. No fecal odor.

B. utilis (n. sp.).

This organism was isolated in November, 1899, from the Illinois River, during the investigation of the St. Louis water supply carried on, in part, by the University of Chicago. One ccm of water was incubated for 24 hours in 0.55 % carbol broth, then plated in litmus lactose agar, where such a production of pigment occurred that the plate was brilliantly colored. The red pigment form grew luxuriantly upon isolation, and, since it differed from *B. prodigiosus* and from the others of the series, is here described as a new species. Its vigor of growth and pigment production have been slightly lessened by two years of cultivation upon laboratory media. Its points of difference are as follows:

A short, actively motile bacillus, slightly larger on all media than *B. prodigiosus*, but smaller than *B. ruber balticus*. Gelatine, growth and liquefaction rapid, little pellicle, the whole liquid vivid red. When first isolated, agar plate colonies always showed pseudopodia like ramifications; later, branching more rare, or only on plates from old cultures. Growth and pigment best on acid agar. No metallic lustre ever seen on agar or potato. In acid bouillon, the whole liquid colored red, no pellicle. The presence of dextrose and lactose increases the pigment, that of sucrose does not. Milk acid and coagulated in 24 hours, later peptonized at 35°. Gas production, in textrose and sucrose bouillon, when first isolated, 90 % of tube length, 65 % of this CO₂. Later, 50 % of tube length, all CO₂. Nitrates reduced only to nitrites. Odor, like *B. prodigiosus*.

B. amylo ruber (n. sp.).

An organism which differed from *B. prodigiosus*, *B. ruber balticus* etc., in pigment and in some other characters, was isolated from Mississippi River water in 1901; because of its ability to grow actively upon starchpeptone media it has been given the above name. After passing through a summer upon neutral agar the character of its growth was somewhat changed, tending to a thin crusty or granular growth instead of one soft and luxuriant. The pigmentation on ordinary media has undergone no deterioration, remaining deep violet red. The chief points of deviation from the forms already described are as follows:

Upon ordinary media the pigment is deep violet red, taking orange color only on alkaline agar. Sugar free bouillon, little pigment; sugar bouillon, colored deep violet red. Milk, peculiar; at first, no change; later, a violet red coloration; after 15 days, a fine red and white sediment of pigment granules and precipitated casein, but no coagulation and no peptonization. No gas is evolved in any sugar bouillon. Nitrates, reduced to nitrites.

B. fuchsini (Boekhout and De Vries).

This name has been given to two different organisms 1, to

a "new chromogenic bacillus" described by Boekhout and De Vries in 1898 (60), and 2) to the red bacillus described but unnamed by Lustig in 1893 (8), named by Migula in 1900 (10). Lustig's organism, which he described very completely, differs morphologically from *B. prodigiosus* in that it is a rodlet two or three times as long as broad, and contains pigment granules in the cell body. Its cultural features are like those of *B. prodigiosus*, with the exception of pigment production in the absence of oxygen. This organism is called by Kruse (3) *B. ruber aquatilis*.

Král informed me that the *B. fuchsinus* sent out by him was obtained from Boekhout and De Vries. According to the description of these authors, their bacillus differs from *B. prodigiosus* in the following points: It is slightly longer, i. e., 1–1.5 μ long. They describe it as non-motile, but later state that in "Malzagar" it is longer and shows motility. It does not show the metallic lustre on ordinary agar, but does on potato and on sodium tartrate agar. (*B. prodigiosus* often does not show it on agar.) It peptonizes the casein in milk, and does not produce gas in any sugar bouillon.

The culture which came to me from Král showed no pigment upon arrival, nor was I able to induce any pigment production by various methods of rejuvenation, such as alternating series of bouillon and gelatine cultures, growth on potato or on sodium tartrate, agar etc., although the growth was rapid and luxuriant on all media. After cultivating the organism for over a year, I had decided that this form either was not *B. fuchsinus*, or had lost its power of pigment production permanently, when I discovered on a culture made on old dry agar a trace of red at the top of the agar slant, where the agar was dryest. By careful transference through a series of old dry agar tubes, I was able to increase the pigment until it showed on the upper third and all around the edge of the white agar growth, and also at the top of growth on dry potato. This pigment was promptly lost, however, when inoculation was made upon fresh media, and never showed in gelatine or bouillon. My culture differed from the description of Boekhout and De Vries only in absence of pigment, and in non-peptonization of casein. Nitrates are reduced to nitrites and to free gas. Gas is not formed from sugar bouillon.

B. ruber (Miquel).

This organism was sent to me from Král's Laboratorium; the only description of it is contained in the following very kind answer by Miquel to an inquiry concerning the organism . . . „Je n'ai jamais publié de travail sur le *Bacillus ruber* que vous mentionnez Le bacille, qui possède les principaux caractères du Bacille rouge de Kiel, mais qui en diffère par sa faculté négative de liquifier la gelatine, fut donc aucune curiosité à l'institut Pasteur d'où il a émigré un peu partout jusqu'au Laboratoire de Dr. Král sans être précédé d'un signalement quelqu'un.

Si le hasard me le faisait de nouveau rencontrer dans les eaux, peut-être en ferai-je l'histoire en raison de la beauté de son pigment moi doré; mais actuellement je n'en saurais dessiner une monographie précise; mes recherches sur ce micro-organisme datants de plus de 10 ans."

I have completed Miquel's description as follows:—

Morphology, a rodlet 2—3 μ in length, often in chains of several bacilli, non-motile, sporeless. Gelatine colonies, 48 hours, small, irregular, finely granular, with well defined edges; 72 hours, show a peculiar corrugated, overlapping growth; the next day pigment appears at the centre, and later they become deep violet red. In gelatine stab, a red surface colony and a white needle track growth; no liquefaction. 24 hours surface colonies on agar show a peculiar lined and cracked appearance under low power; in 48 hours they are tinged red, and later look like *B. prodigiosus* colonies. Agar streak shows green lustre and is like *B. prodigiosus* or *B. ruber kiliensis*. Potato violet, red line in 24 hours, later darker, often green lustre. Does not spread on potato. Blood serum not liquefied. Milk, no change except pigmentation. Gas, 45 % of tube length in dextrose bouillon only, 79 % of gas CO₂. Oxygen and temperature relations, like *B. prodigiosus*. Nitrates reduced to nitrites. No characteristic odor.

B. rubricus (n. sp.).

In the autumn of 1901 three cultures were isolated in this laboratory (University of Chicago) from the Mississippi and the Missouri Rivers, which produced red pigment but showed marked differences from *B. prodigiosus* and the cultures previously described. These cultures do not grow rapidly, and the pigment appears very slowly, the color beginning as pink or salmon pink, and not attaining the characteristic brilliant red for some weeks. Morphology, a small, slender, non-motile bacillus. Colonies, gelatine and agar, slow growing, small, round, non characteristic, under low power finely granular; color, yellow orange, deepening to red. When first isolated, began to liquefy gelatine very slowly in ten days. After a year's cultivation, the power of liquefying ordinary gelatine had entirely disappeared. Agar slant, when dry and growth limited, may develop bright red pigment in a few days; when moist and spreading, may remain white or light pink for weeks, gradually deepening in color. Potato slight or no growth. Bouillon, cloudy, with pink pellicle. When first isolated, milk unaffected; later, litmus milk cultures showed marked alkalinity. No gas, nitrate not reduced, aërobic. May grow at 37°, but better at room temperature.

B. rufus (n. sp.).

Two cultures, much like *B. rubricus*, were isolated at about the same time and place. In pigment and in manner of development this organism was hardly distinguishable from *B. rubricus*, but differed in showing luxuriant growth on potato, and in not

26*

losing its power of liquefying gelatine slowly but completely. Milk, unchanged or slightly alkaline in 15 days.

B. ruber (Zimmermann).

This form was isolated from the Chemnitz water supply and described by Zimmermann in 1890 (61). Migula gives it the name *B. pseudoruber*, since, he says, the name *ruber* had already been used by Frank, whose organism, he thinks, is not identical with that of Zimmermann. Zimmermann himself had mentioned Frank's form, but remarked, that identity with his was impossible to determine because of the incomplete description of the former; he thinks that his organism is more likely to be identical with Eisenberg's red bacillus.

My culture of *B. ruber* Zimmermann, from Král, differs both from the original description and from that of Eisenberg's bacillus (cf. Table II, Appendix). It is non-liquefying, non-gas producing, and non-luxuriant on potato. It differs from *B. rubricus* and *B. rufus* in being an actively motile bacillus. Bouillon shows a peculiar growth; no development is visible for three or four days, then a thin pink pellicle forms on the surface which sends floating cobwebby streamers down into the clear liquid. This may still be seen after 26 days. Some pin-point pink colonies attach themselves to the wall of the tube. Potato shows a slow clear red growth, limited to the needle track. Litmus milk becomes blue through alkali production. No development occurs without oxygen, nor at 37° C. Blood serum not liquefied, nitrate not reduced.

B. havaniensis (Sternberg).

Sternberg has unfortunately given this name to two different organisms; one, the color producing, he termed *B. havaniensis* (62), the other, colorless, *B. havaniensis liquefaciens*. Kruse and Migula describe the latter under the name *B. havaniensis*, which properly belongs to the red form. Sternberg's description of the red form is, as follows: A short oval bacillus, usually in pairs, about 0,4—0,5 μ in diameter. The cells are nearly spherical. It is an aerobic, non liquefying, chromogenic bacillus, which grows slowly at room temperature. On gelatine plate the colonies are spherical, translucent, of a blood red color; on gelatine stab there is an opaque carmine layer, with a scanty colorless growth in the depths. On agar the growth is slow but continuous, of a glistening red color, with wavy outlines. The organism frequently fails to grow on acid potato, but sometimes develops on old dry potato. Pigment is found only in the presence of free oxygen. — Migula, in describing this organism, does not include it among the red forms; he says that its growth on agar is brown, and that it shows no growth on potato.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Die Verbreitung der Mosaikkrankheit infolge der Behandlung des Tabaks.

Von Dr. F. W. T. Hunger in Buitenzorg (Java).

In meiner Abhandlung über „de Mozaiekziekte bij Deli-Tabak, Deel I“¹⁾ wird in einem eigenen Kapitel — § 4 — die Frage behandelt, ob obengenannte Tabakkrankheit zu den kontagiösen Pflanzenkrankheiten gehört oder nicht.

Meiner Meinung nach ist die Mosaikkrankheit nicht kontagiös²⁾, dagegen sehr leicht von kranken auf gesunde Pflanzen künstlich zu übertragen.

Durch spezielle Versuche (l. c. p. 45—47) wurde gezeigt, daß in Betreff der Verbreitung der Krankheit auf dem Felde nicht die geringste Regelmäßigkeit zu entdecken war, was übereinstimmt mit Mayers Vorstellung, welche lautet: „Was die Verteilung der erkrankten Pflanzen auf einer befallenen Grundfläche angeht, so läßt sich hierüber gar keine Regel aufstellen. Nicht selten trifft man mehrere kranke Pflanzen nebeneinander. Ebenso oft aber gesunde und kranke Individuen in der allerwillkürlichsten Folge miteinander wechselnd an. Als ganz sicher ist anzunehmen, daß eine schon sichtlich kranke Pflanze niemals als Ansteckungsherd für ihre Umgebung auftritt“³⁾.

Die Versuche, welche bis jetzt von mehreren Forschern gemacht wurden, um die Leichtigkeit der Uebertragung der Mosaikkrankheit zu demonstrieren, wurden stets ausgeführt — entweder durch Injektion kranken Saftes, oder durch Inokulation kranken Pflanzenmaterials — während es sich herausstellte, daß die Erde, worin eine kranke Pflanze gestanden hat, ebenfalls die Krankheit übertragen kann (l. c. p. 57—59).

Koning wagte, infolge seiner Erfahrung, daß, wenn man zwischen den Fingern ein mosaikkraunkes Blatt zerreibt und darauf den feuchten Finger bei einer gesunden Pflanze an die Wundfläche eines abgebrochenen Blattes bringt, wodurch nach ihm bei jungen Pflanzen stets innerhalb 3—4 Wochen die Flecken an den jüngsten Blättern erscheinen, die folgende Voraussetzung: „Es scheint mir nicht unmöglich, daß die Personen, welche mit dem Köpfen der Pflanzen und dem Ernten der Blätter beauftragt sind, mit ihren von kranken Blatteilen infizierten Fingern den Ansteckungsstoff auf gesunde Pflanzen bringen können; daher im Spätsommer die zahlreichen Fälle, wo die Geizen und jungen Blätter die Fleckenkrankheit zeigen“⁴⁾.

Diese Hypothese begründet sich wiederum auf die Ueber-

1) Mededeelingen s' Lands Plantentuin. 1903. No. 63.

2) Als Kriterium für den kontagiösen Charakter der Mosaikkrankheit stellte ich die Möglichkeit von einem Uebergange der Krankheitsursache von der einen auf die andere Pflanze ohne Vermittelung im weitesten Sinn des Wortes (l. c. p. 44).

3) Landw. Versuchsstationen. Bd. XXXII. 1886. p. 452.

4) Koning, C. J., Der Tabak. p. 33.

tragung kranken Saftes, entweder aus dem Stengel (beim Köpfen) oder aus dem Blattstiel (beim Ernten); was für sich nur eine modifizierte Methode der schon längst bekannten Impfungen darstellt.

Nichtsdestoweniger würde, wenn obengenannte Ansteckungsweise bewiesen wäre, der so allgemein verbreitete Gedanke, daß der „Kuli“ mit Schuld trägt an der Verbreitung dieser Krankheit auf dem Felde, hierdurch eine Stütze erlangen.

Während meines Aufenthaltes in Deli in diesem Jahre wurden Versuche angestellt, um zu untersuchen, ob wirklich ein Zusammenhang zu entdecken sei zwischen der Behandlung des Tabaks und dem späteren Auftreten der Mosaikkrankheit.

Hierbei ging man noch einen Schritt weiter als Koning, insofern, als die geringste Beschädigung total ausgeschlossen wurde, so daß der Saft aus der inneren Pflanze nicht in Betracht kam, dagegen der Einfluß einer bloßen Berührung beim Raupensuchen verfolgt wurde.

In folgender Weise wurden die Versuche angestellt:

Am 19. März 1903 wurden auf einem vollkommen homogenen Terrain an 4 nebeneinanderliegenden Stellen jedesmal 40 Keimpflänzchen ausgesetzt, in 4 Reihen zu je 10 Exemplaren. Auf diese Weise wurden 4 kleine Felder erhalten, nämlich A, B, C und D.

In die Felder A und D wurde beiderseits in das Pflanzenloch der Pflanze No. 1 absichtlich eine mosaikkranken Keimpflanze gesetzt; im übrigen waren alle Pflanzen jedes Feldes vollkommen gesund. Jeden Morgen wurde in diesen 4 kleinen Feldern nach Raupen gesucht, was genau nach der Reihenfolge geschah. Stets wurde angefangen bei den Feldern B und C, wo alle Pflanzen von No. 1—40 nacheinander abgesucht wurden. Darauf wurden in Feld D erst allein die geraden Nummern (also die Pflanzen No. 2, 4, 6 u. s. w.—40) nachgesehen und, wenn man hiermit fertig war, wurde hier, von der Pflanze No. 1 ausgehend, bei allen ungeraden Exemplaren (also die Pflanzen No. 3, 5, 7 u. s. w.—39) nach Raupen gesucht. Zuletzt kam Feld A an die Reihe, wo von Pflanze No. 1 an alle 40 Pflanzen kontrolliert wurden.

Das Resultat war, wie folgt:

Feld A: Alle Pflanzen, eine ausgenommen, zeigten schon bei der zweiten Anhäufelung — d. h. 24 Tage nach dem Auspflanzen — die Krankheitserscheinungen; die Pflanze No. 22 hat es allein 49 Tage ausgehalten, ohne mosaikkrank zu werden, dann aber auch nicht länger.

Feld B: Alle Pflanzen, 2 ausgenommen, blieben gesund; die Pflanzen No. 4 und 7 zeigten beide zuletzt die Krankheitserscheinungen in der Spitze.

Feld C: Alle Pflanzen, 2 ausgenommen, blieben fortwährend vollkommen gesund; die Pflanze No. 21 wurde schon frühzeitig — d. h. 20 Tage nach dem Auspflanzen — mosaikkrank und wurde sogleich fortgesetzt. Ganz zuletzt zeigte die Pflanze No. 11 die Krankheitserscheinungen in der Spitze.

Feld D: Alle ungeraden Nummern (also die Pflanzen No. 1, 3 u. s. w.—39 waren bei der zweiten Anhäufelung schon mosaikkrank, während alle geraden Nummern (also die Pflanzen No. 2, 4 u. s. w.—40) noch vollkommen gesund waren.

Ungefähr 30 Tage nach dem Auspflanzen erschien die Mosaikkrankheit jedoch bei den Pflanzen No. 4, 32 und 38, während ganz zuletzt bei den Pflanzen No. 12, 16, 26 und 30 die Krankheitserscheinungen in der Spitze entdeckt wurden.

Durchgehends gesund blieben die Pflanzen No. 2, 6, 8, 10, 14, 18, 20, 22, 24, 28, 34, 36 und 40.

Der Assistent, welcher diesen Versuch versorgte, war allerdings genötigt, mir mitzuteilen, daß er sich im Anfang bei Feld D ab und zu geirrt habe hinsichtlich der geraden und ungeraden Zahlen.

Am 16. Mai wurde abermals ein Versuch angestellt, mit 400 jungen Pflanzen, welche in 10 Reihen zu je 40 Exemplaren standen. Die Pflanze No. 1 der vordersten Reihe wurde absichtlich ersetzt durch eine junge mosaikkranken Pflanze, und von dieser ausgehend, wurden jeden Morgen alle übrigen Pflanzen abgesucht und berührt.

Nach 3 Wochen wurde verfolgt, wie die Mosaikkrankheit bei diesem Versuche fortgeschritten war, mit folgendem Resultat:

1. Reihe = 40	6. Reihe = 25
2. „ = 35	7. „ = 16
3. „ = 30	8. „ = 20
4. „ = 28	9. „ = 15
5. „ = 20	10. „ = 11

Aus den obenstehenden Zahlen geht hervor, daß mit der Entfernung von dem ursprünglichen Infektionsherd die Anzahl der von der Krankheit betroffenen Pflanzen fast mit jeder Reihe sich vermindert.

Am 20. Mai wurde ein Versuch angestellt mit 2 einander parallel laufenden Reihen, je zu 40 Pflanzen, wo an einer Seite jeder Reihe absichtlich eine mosaikkranken Pflanze gesetzt war.

In der Reihe A wurden, ausgehend vom mosaikkranken Exemplar, jedesmal allein die ungeraden Nummern berührt (also die Pflanzen No. 1, 3, 5 u. s. w.—39).

In der Reihe B, wurde, ebenfalls ausgehend vom mosaikkranken Exemplar, jede 4. Pflanze berührt (also die Pflanzen No. 1, 5, 9 u. s. w.—37).

Vom 20. Mai an bis zum 1. Juni wurden diese Pflanzen nur 3mal berührt, nichtsdestoweniger zeigten alle berührten Exemplare der beiden Reihen am 2. Juni schon sehr deutlich die bekannten Krankheitserscheinungen.

Dergleichen Versuche wurden noch öfters wiederholt und in verschiedenen Richtungen abgeändert in Betreff der Anzahl Exemplare, welche berührt und welche überschlagen wurden, und stets mit dem Resultat, daß alle berührten Pflanzen immer mosaik-

krank wurden, während die unberührten nur ausnahmsweise die Krankheitserscheinungen später zeigten.

2mal wurde bei meinen Versuchen eine Pflanze beobachtet, welche trotz wiederholten Berührens doch nicht mosaikkrank wurde. Offenbar war die Widerstandsfähigkeit hier so stark entwickelt, daß eine oberflächliche Berührung keine schädlichen Folgen haben konnte.

Es muß jedoch erwähnt werden, daß diese für die Mosaikkrankheit wenig prädisponierten Individuen beide sehr schwächlich entwickelte Pflanzen waren.

Der Schluß, welcher jetzt gezogen werden darf, scheint mir nicht zweifelhaft. Mit vollkommener Sicherheit ist hier bewiesen worden, daß eine vorhergehende oberflächliche Berührung einer mosaikkranken Pflanze schon genügt, um nacher mit der Hand eine gesunde Pflanze zu infizieren.

In oben beschriebenen Versuchen wurde die Berührung herbeigeführt durch das Raupensuchen, wobei hauptsächlich die alljüngsten Blätter der Pflanze in Betracht kommen. Deutlich gibt diese Arbeit bei dem einen Kuli viel mehr mosaikranke Pflanzen als bei einem anderen, was meiner Meinung nach abhängig ist sowohl von dessen Geschicklichkeit im Fache als von seinem Gesichtssinne. Ein Kuli, welcher tüchtig in seiner Arbeit routiniert und gleichzeitig ein gutes und geübtes Auge besitzt, geht seinem Tabak entlang und sieht sogleich, ohne die Pflanze zu berühren, ob eine Raupe sich in der Spitze aufhält oder nicht. Ist letzteres der Fall, so geht er weiter; entdeckt er jedoch eine Raupe, dann wird diese mit einem Handgriff beseitigt.

Ein minder geübter Kuli oder einer, der an Gesichtsschwäche leidet, sucht nach Raupen, d. h. bei jeder Pflanze wird stillgestanden und jedesmal werden die Spitzblättchen auseinandergebogen und von allen Seiten berührt.

Selbstverständlich ist im erstgenannten Fall die Gefahr für Weiterverbreitung der Krankheit auf dem Felde geringer als bei letztgenannter Arbeitsweise.

Nach Mitteilung von Pflanzern sind die ärgsten „Mosaikulis“ meistens alte, oder noch wenig geübte Menschen (singkeh's), während ich selbst erklären kann, daß einige Kulis, welche regelmäßig jedes Jahr fast ausschließlich mosaikranke Pflanzen in ihren Feldern hatten, sich bei ärztlicher Untersuchung als stark myop erwiesen.

Ungeachtet der Natur und Art des Kontagiums scheint es, daß dieses sehr leicht von vollkommen intakten mosaikkranken Pflanzen auf gesunden Tabak übertragen werden kann, ohne vorherige gegenseitige Beschädigung, woraus deutlich hervorgeht, daß es empfehlenswert ist, sobald die ersten Erscheinungen der Mosaikkrankheit bei einer Pflanze sichtbar werden, dieselbe sogleich vorsichtig aus der Anpflanzung zu entfernen.

s' Lands Plantentuin, Buitenzorg.

Referate.

Godlewski sen., Emil, Zur Kenntniss der Eiweißbildung in den Pflanzen. (Bulletin de l'Acad. des sciences de Cracovie. Juni 1903.)

Es handelt sich um die Aufrechterhaltung des vom Verf. schon früher (1897) aus einigen vorläufigen Versuchen gezogenen Schlusses, ob in den im Dunkeln vegetierenden Weizenkeimlingen eine gewisse Menge Salpeterstickstoff in organische, wenn auch nicht proteinartige, Stoffe übergeführt wird.

In jener vorläufigen Mitteilung hatte sich Verf. in gewissen Gegensatz zu A. F. W. Schimper gesetzt, welcher bekanntlich durch eine mikrochemische Methode zu beweisen versuchte, daß Licht und Chlorophyll für die Zersetzung der Nitrate in den höheren Pflanzen unentbehrlich sind, während die genannte Untersuchung von Godlewski ergab, daß Licht und Chlorophyll für die Zersetzung des Salpeters in den höheren Pflanzen nicht absolut notwendig, sondern nur in hohem Grade förderlich sind. (Die Bildung der Eiweißstoffe aus den intermediären N-Verbindungen aber sei unmöglich ohne Licht.)

Dagegen gelangten um dieselbe Zeit Laurent Marchal und Carpiaux (Extrait du Bulletin de l'Académie royal de Belgique. T. XXXII. 1896) zu dem Resultat, daß es ohne Licht überhaupt nicht geht, auch nicht die Umbildung des Salpeters in Vorstufen vom Eiweiß.

Zaleski hat eine Zunahme des Eiweißstickstoffes beobachtet, wenn er die Blätter von *Helianthus annuus* in Knopscher Nährlösung unter Zusatz von 4 Proz. Lävulose 6—39 Stunden im Dunkeln hielt (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XV. 1897). Auch stellte derselbe Autor fest, daß bei der Keimung der Zwiebel von *Allium Cepa* im Dunkeln die Menge der Eiweißstoffe auf Kosten des Nichteiweißstickstoffes zunimmt. Bemerkenswert ist, daß diese Eiweißbildung hier weder auf Kosten des Asparagins oder Glutamins noch auf Kosten der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen stattfindet, da die Menge des Asparagins während der Keimung der Zwiebel eher zu- als abnimmt und die Menge des mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes fast unverändert bleibt. „Dennoch erfolgt hier die Eiweißbildung auf Kosten der Aminosäuren oder anderer nicht näher bestimmbarer Säuren.“ Daß bei der Keimung der Zwiebel die Eiweißbildung über die Eiweißzersetzung überwiegt, während bei der Keimung der Samen das Gegenteil zu beobachten ist, erklärt sich einerseits dadurch, daß die Zwiebel verhältnismäßig wenig Eiweißstickstoff und viel Stickstoff des Nichteiweißes enthält, andererseits dadurch, daß der große Reichtum der Zwiebel an zuckerartigen Kohlehydraten günstige Bedingungen für die Umwandlung des Nichteiweißes in Eiweiß schafft.

Zaleskis Resultate wurden später durch Prianschnikow bestätigt (Eiweißzerfall und Eiweißrückbildung in den Pflanzen, Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XVII. 1899).

Dann haben Iwanoff, Schoeder und Schulow nachgewiesen, daß nicht nur bei der Keimung der gewöhnlichen Zwiebel, sondern auch bei anderen Organen (Kartoffelknollen, Dahlia-Knollen, Mohrrüben, Runkelrüben) Eiweißbildung auf Kosten nichteiweißartiger Verbindungen stattfindet.

Etiolierte Blätter von *Vicia faba* bilden nach Palladin auf einer 10- resp. 5-proz. Rohrzuckerlösung binnen 3–4 Tagen im Dunkeln Eiweiß auf Kosten anderer N-haltiger Verbindungen.

Suzuki hat mit etioliierten Gerstenpflanzen experimentiert. Er hat Eiweißbildung im Dunkeln auf Kosten von Salpeterstickstoff (unter Beihilfe von Rohrzucker [10 Proz.]) konstatiert. Wurde nur 7-proz. Rohrzuckerlösung gegeben, so vermehrte sich der Eiweißstickstoff nicht, ein Zeichen, daß die Eiweißbildung nur bei Anwesenheit eines großen Ueberschusses von Rohrzucker im Dunkeln möglich ist.

Nach Hansteen (Ueber Eiweißsynthese in grünen Pflanzen. Pringsh. Jahrb. Bd. XXXIII) hingegen können *Lemna*-Pflänzchen, ferner etioliierte Keimlinge von *Vicia faba* und *Ricinus communis* zwar bei Traubenzuckerzufuhr im Dunkeln Eiweiß aus Asparagin oder Glutamin bilden, nicht aber bei Rohrzuckerzufuhr. Er spricht dem Lichte eine direkte Wirkung bei der Eiweißbildung ab.

Laurent und Marchal kamen in ihrer neuesten Arbeit (Recherches sur la synthèse des substances albuminoïdes par les végétaux. Extrait des Bulletins de l'Académie royale de Belgique 1903) bei Versuchen mit Kressen- und Senfkeimlingen zu dem Schlusse, daß eine Umwandlung von Salpeterstickstoff in nichteiweißartige organische Verbindungen im Dunkeln möglich sei; ferner, daß die sichtbaren, bei der Kohlensäureassimilation so wirksamen Lichtstrahlen für die Eiweißbildung fast bedeutungslos seien, während die unsichtbaren ultravioletten Strahlen wichtig sind. Die beiden Autoren sprechen auch die Meinung aus, daß die für die Eiweißsynthese nötige Energie bei den grünen (Blüten-)Pflanzen in der Regel vom Lichte geliefert wird, während sie bei den chlorophyllfreien Pflanzen und Pflanzenteilen aus den chemischen Spannkraften der Reservestoffe gewonnen wird.

Zu welchen Resultaten gelangt nun Godlewski bei seiner neuesten Arbeit?

Die Untersuchungsmethode war dieselbe wie früher: Weizen- resp. Gerstensamen von annähernd gleichem Gewicht wurden in Schönjahn'schen Keimapparaten ausgesät. Nachdem die Wurzeln eine Länge von etwa 1–2 cm erreicht hatten, wurden die Apparate mit vollständiger resp. stickstofffreier Nährlösung gefüllt. Die Pflänzchen wurden etwa 3 Wochen lang, sei es im Dunkeln, sei es im Lichte, aber in einer kohlensäurefreien Atmosphäre kultiviert und dann geerntet, getrocknet, gewogen und einer Analyse auf die verschiedenen Stickstoffformen unterworfen. Eiweißstickstoff und

Salpeterstickstoff wurden bestimmt, außerdem aber (bei diesen neuen Versuchen) auch noch der Ammoniakstickstoff, der Amidstickstoff (nach Sachse) und der Aminosäurestickstoff (nach Sachse-Böhmer), oft auch der Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen.

Die einzelnen Resultate der Arbeit hier wiederzugeben, würde zu weit führen.

Wir beschränken uns daher auf eine kurze Zusammenfassung des Hauptsächlichsten:

Die höheren Pflanzen vermögen, wie die Pilze, den Stickstoff aus salpetersauren Salzen im Dunkeln zu assimilieren und eine Eiweißsynthese sowohl aus den nächsten Produkten dieser Assimilation als auch aus den Spaltungsprodukten der Proteinstoffe zu bewirken.

Während aber bei den Pilzen das Licht gar keine Rolle spielt, assimilieren die grünen Pflanzen ausdauernd und ergiebig den Stickstoff nur dann, wenn Licht da ist. Sowohl für die Neubildung aus salpetersauren Salzen wie auch für die Regeneration der Eiweißstoffe aus ihren Spaltungsprodukten gilt das.

Das Licht wirkt hierbei zum Teil direkt ein, indem es Energie liefert, zum Teil indirekt durch Begünstigung der Kohlehydratbildung.

Wenn die Stickstoffassimilation und Eiweißsynthese ohne Licht geschieht, dann stammt die nötige Energie aus den bei der Atmung und dem Stoffwechsel freiwerdenden Kräften. Die Pilze haben eben einen sehr starken Stoffwechsel und können deswegen ganz ohne Licht auskommen.

Nur wenn die Lebensbedingungen der höheren Pflanzen denen der Pilze sich nähern, wenn z. B. stickstofffreie plastische Stoffe reichlich da sind, dann können sie das Licht bei der Stickstoffassimilation entbehren.

In den Gersten- und Weizenkeimlingen sind namentlich Aminosäureamide (besonders Asparagin) am reichlichsten vertreten als intermediäre Produkte (etwa die Hälfte des gesamten Stickstoffes). Die Aminosäuren und die durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen sind in wechselnder und meist geringer Menge vorhanden (noch andere nicht zu diesen 3 Gruppen gehörige N-Verbindungen vorhanden?).

Bei Stickstoffmangel ist die Wurzelbildung begünstigt gegenüber der Sproßbildung, als ob die Pflanze den Boden besser auszunützen bestrebt wäre. Kosiński hat das Gleiche beobachtet, aber noch nicht publiziert.

Th. Bokorny (München).

Jahn, Der Zellbau und die Fortpflanzung der Hefe.
(Archiv für Protistenkunde. 1903. p. 127—138. 7 Fig.)

Dieser Artikel gibt eine Uebersicht über die in letzter Zeit bezüglich der Struktur der Hefearten und ihrer Kopulation angestellten Untersuchungen.

Guilliermond (Lyon).

Herlitzka, Sull' isolamento di un corpo glicolitico dal *Saccharomyces cerevisiae*. (Giornale della R. Accademia di Medicina di Torino. 1903. No. 2, 3.)

In einer früheren, mit A. Borrino ausgeführten Arbeit hatte Verf. nachweisen können, daß das Nukleohiston der Leber und das Nukleoproteid der Niere und der Thymus auf die Zersetzung des Traubenzuckers in vitro katalytisch wirkten; dies veranlaßte ihn nachzuforschen, ob die durch *Saccharomyces cerevisiae* bedingte Gärung des Traubenzuckers nicht auf etwaige, das organische Gefüge dieses Mikroorganismus bildende organische Substanzen zurückzuführen wäre. Mit Hilfe spezieller Methoden ist es Verf. gelungen, vom *Saccharomyces* ein Nukleoproteid und ein Nukleohiston zu isolieren und hierbei die Einwirkung dieser beiden Substanzen auf einige Monosaccharide, und zwar auf Traubenzucker, Lävlulose und Galaktose zu untersuchen. Das Nukleohiston erwies sich als fähig, die soeben erwähnten Zuckerarten zur Gärung zu bringen, während das Nukleoproteid stets ein negatives Resultat ergab.

Eine zweite Reihe von Untersuchungen wurde vom Verf. angestellt zur Bestimmung der infolge Einwirkung des Nukleohistons aus der Lösung verschwundenen Menge von Monosacchariden. Bei diesen Versuchen wurden die Lösungen der Monosaccharide mit verschiedenen antiseptischen Substanzen (Chloroform, Thymol, Trikresol) versetzt, um die eventuelle glykolytische Wirkung von Mikroorganismen dadurch auszuschließen. Alle diese antiseptischen Substanzen modifizieren die katalytische Wirkung des Nukleohistons, indem sie dieselbe verzögern; nur Thymol vermag in höheren Dosen sie gänzlich aufzuheben. Chloroform vermindert das katalytische Vermögen des Nukleohistons; die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt aber, nachdem das Chloroform durch Verdampfung aus der Lösung entwichen, wieder zu. Das Chloroform ist daher ein Paralytiker des Nukleohistons.

Was nun aber den Säure- und Alkaligehalt des Gärungsmittels anbetrifft, so schließt Verf. aus seinen Versuchen, es sei noch unentschieden, ob der Alkaligehalt der Lösung irgend welchen günstigen Einfluß auf das katalytische Vermögen des Nukleohiston des *Saccharomyces* ausübe; als sicher müsse hingegen angenommen werden, daß die Acidität von gleicher Konzentration diese Wirkung vollständig aufhebt.

Eine Verminderung des Sauerstoffgehaltes des Raumes, in welchem die Gärung vor sich geht, hat auf die Menge des zersetzten Traubenzuckers keinerlei Einfluß.

In Betreff der Frage, ob überhaupt die durch *Saccharomyces* hervorgerufene Gärung durch eine einen Bestandteil der lebenden Zelle ausmachende Substanz, oder aber durch ein lösliches Enzym bedingt sei, spricht sich Verf. mit Rücksicht auf die Untersuchungen Buchners dahin aus, die gärende Wirkung des von diesem letzteren gewonnenen Saftes sei dem Vorhandensein des darin enthaltenen Nukleohistons zu verdanken. Nun kann aber letzteres zu den löslichen Enzymen nicht gerechnet werden, da es einen

integrierenden Bestandteil des lebenden Protoplasmas ausmacht, weshalb Verf. für diese und noch andere ähnliche katalytisch wirkende Substanzen — um dieselben von den Enzymen scharf zu unterscheiden — den Namen „Plasmozyme“ vorschlägt.

Veratti (Pavia).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Thurstan, E. Paget, Lectures on Bacteria. (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 4. p. 299—310. 4 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Appel, Zur Kenntnis der Ueberwinterung des *Oidium Tuckeri*. (Vorl. Mitt.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 4/5. p. 143—145. 1 Fig.)

Asakawa, M., Ueber das Wesen der Agglutination und eine neue Methode, die Agglutination schnell zu beobachten (Gefriermethode). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 1. p. 93—96.)

Bau, Arminius, Das Enzym Melibiase, sowie vergleichende Studien über Maltase, Invertase und Zymase. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 47. p. 560—564.)

Cole, Sydney W., Contributions to our knowledge of the action of enzymes. Part. 1. The influence of electrolytes on the action of amylolytic ferments. (Journ. of physiol. Vol. XXX. 1903. N. 2. p. 202—220.)

van Delden, A., Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien. (Schluß.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 4/5. p. 113—120. 1 Taf.)

Desmoulins, A. M., Fermentation incomplète. (Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 87. p. 344.)

Doyon, Sur la lipase. Réponse à M. Hanriot. (Compt. Rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 29. p. 1209—1211.)

Embleton, Alice L., *Cerataphis lataniae*, a peculiar Aphid. (Journ. of the Linnean soc. Zool. Vol. XXIX. 1903. N. 188. p. 90—107. 1 Taf.)

v. Graff, Die Turbellarien als Parasiten und Wirte. (Festschrift d. k. k. Karl-Franzens-Universität in Graz f. d. Jahr 1902. Graz (Leuschner & Lubensky) 1903. 66 pp. 4^o. 3 Taf. u. 1 Fig.)

Hecq, Nestor, Étude sur la fermentation visqueuse du pain. (Bull. de l'agricult. T. XIX. 1903. Livr. 5. p. 678—682.)

Hedin, S. G., On the presence of a proteolytic enzyme in the normal serum of the ox. (Journ. of physiol. Vol. XXX. 1903. N. 2. p. 195—201.)

Heinselmann, G., Gärbottiche als Infektionsherde. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVI. 1903. N. 46. p. 491.)

Hill, A. Croft, Ueber die Umkehrbarkeit der Wirkung der Enzyme. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 45. p. 533—537.)

Jacobitz, E., Beitrag zur Frage der Stickstoffassimilation durch den *Bacillus ellenbachensis* α Caron. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 1. p. 96—107.)

- Kossowicz, Alexander**, Untersuchungen über das Verhalten der Hefen in mineralischen Nährlösungen. (2. Mitt.) (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VI. 1903. Heft 10. p. 731—737.)
- Lindner**, Pilze in den Fingernägeln, infolge Infektion mit fauligem Stroh. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 47. p. 564.)
- Mavrojannis, A.**, Das Formol als Mittel zur Erforschung der Gelatineverflüssigung durch die Mikroben. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Helt 1. p. 108—114.)
- Marchal, Em.**, Étude microbiologique d'un fromage toxique. (Bull. de l'agricult. T. XIX. 1903. Livr. 5. p. 673—677.)
- Mayr, H.**, Ist der Schüttepliz (*Lophodermium pinastri*) ein Parasit? (Forstwirtschaftl. Centralbl. Jg. XLVII. 1903. Heft 11. p. 547—556. 1 Taf.)
- Möslinger**, Die Milchsäure im Wein, ihre Entstehung, Beurteilung und technische Bedeutung. (Dtsche Wein-Ztg. Jg. XL. 1903. N. 83. p. 833—834.)
- Münser, Egmont**, Dauerhefe und Gärungsprobe. (Münch. med. Wehnschr. Jg. L. 1903. N. 45. p. 1949—1950.)
- Nicloux, Maurice**, Sur la glycerine normale du sang. Réponse à M. Mouneyrat. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 30. p. 1229—1231.)
- Nusbaum, Józef**, Ueber die geschlechtlich heterogene Fortpflanzung einer im Darmkanale von *Henlea leptodera* Vejd. schmarotzenden Gregarine-Schaudinnella *henleae* mihl. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXV. 1903. Heft 2. p. 258—280.)
- Palladin, W.**, Ueber normale und intramolekulare Atmung der einzelligen Alge *Chlorothecium saccharophilum*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 4/5. p. 146—153. 2 Taf.)
- Petri, L.**, Di un nuovo bacillo capsulato e del significato biologico delle capsule. (Nuovo giorn. bot. Ital. N. ser. Vol. X. 1903. N. 3. p. 372—395. 1 Fig.)
—, La formazion edelle spore in *Naucoria nana*. (Nuovo Giorn. bot. italiano. N. ser. Vol. X. 1903. N. 3. p. 357—371. 1 Taf.)
- Beh, L.**, Zur Naturgeschichte mittel- und nordeuropäischer Schildläuse. (Allg. Ztschr. f. Entomol. Bd. VIII. 1903. N. 18/19. p. 351—356.)
- Bemy, Th.**, Der gegenwärtige Stand und die künftigen Aufgaben der Bodenbakteriologie. (Illustr. landw. Ztg. Jg. XXIII. 1903. N. 93. p. 983—985; N. 94. p. 993—994. 2 Fig.)
- Seifert, W.**, Ueber die Vergärung von Zitronensäure als Ursache einer Erkrankung des Johannisbeerweines. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VI. 1903. Heft 10. p. 738—747.)
- Sergent, Edmond**, Levure de bière et suppuration. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 10. p. 631—635.)
- Siedentopf, H.**, On the rendering visible of ultra-microscopic particles and of ultra-microscopic bacteria. (Journ. of the R. microsc. soc. 1903. P. 5. p. 573—578.)
- Sollied, Peter Havn**, Studien über den Einfluß von Alkohol auf die an verschiedenen Brauerei- und Brennereimaterialien sich vorfindenden Organismen, sowie Beschreibung einer gegen Alkohol sehr widerstandsfähigen neuen *Pediococcus*art (*Pediococcus Hennebergi* n. sp.) (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVI. 1903. N. 46. p. 493—495.)
- Totuska, K.**, Studien über *Bacterium coli*. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 1. p. 115—124.)

Luft, Wasser, Boden.

- Butterfield, W. J. Atkinson**, Chemical analysis of the air in the house of Commons. (Journ. of hyg. Vol. III. 1903. N. 4. p. 486—497. 2 Fig.)
- Duclaux, E.**, Études d'hydrographie souterraine. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 10. p. 640—664.)
- Graham-Smith, G. S.**, The microorganisms in the air of the house of Commons. (Journ. of hyg. Vol. III. 1903. N. 4. p. 498—514. 1 Fig.)
- Martinelli, Alessandro**, Alcune ricerche batteriologiche e chimiche sull' aria delle abitazione di Bologna. (Giorn. d. R. soc. ital. d'igiene. Anno XXV. 1903. N. 10. p. 491—501.)

Milch, Molkerei.

- Burri, R.**, Zur Kenntnis der vorzeitig gerinnenden Milch. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXII. 1903. N. 45. p. 705—707.)
- v. Soxhlet**, Hygienische Milchversorgung. (Molkerei-Ztg. Jg. XIII. 1903. N. 46. p. 543—545.)
- Troili-Petersson, Gerda**, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 4/5. p. 120—143. 3 Taf.)

Wein, Weinbereitung.

- Delle, Ed.**, Le traitement des vins piqués. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 89. p. 355—356.)
- Sébastien, Victor**, Limpidité des vins jeunes. [Le Moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 88. p. 362.]

Fleisch.

- Keuten, J.**, Gesetzliche Bestimmungen für den Trichinenschauer. Geldern (Schaffrath) 1903. 61 pp. 8°.
- Trautmann, H.**, Der Bacillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung und die verwandten Bakterien der Paratyphusgruppe. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV 1903. Heft 1. p. 139—170.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Andrewes, F. W.**, Lessons in disinfection and sterilisation. London (Churchill) 1903. 222 pp. 8°.
- Ballner, Franz**, Zur Methodik der Prüfung von Desinfektionsmitteln. (Hyg. Rundsch. Jg. XIII. 1903. N. 21. p. 1065—1079.)
- Schneider, Felix**, Ueber das Desinfektionsmittel Kresol Raschig. (Forstwirtschaftl. Centralbl. Jg. XLVII. 1903. Heft 11. p. 600—601.)
- Schumburg**, Ueber die Wirkung einiger chemischer Desinfektionsmittel. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 1. p. 125—138.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- A cucumber leaf disease. *Dendryphium comosum* Wallr. (Journ. of the board of agricult. Vol. X. 1903. N. 2. p. 166—170. 1 Taf.)
- A remedy for dreaded mites. (Journ. of the Depart. of Agricult. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 4. p. 333.)
- Appel**, Kartoffelkrankheiten, Einmieten der Kartoffeln. (Königsberger land- u. forstwirt. Ztg. f. d. nordöstl. Deutschland. Jg. XXXIX. 1903. N. 42. p. 317—319. 4 Fig.)
- Bolley, H. L.**, Diseases of flax and flax-sick soil. (North Dakota Stat. Bul. LV. p. 186—198. 5 Fig.)
- Bossu, C.**, Recherches sur le balaie de sorcière du prunier (*Exoascus insitiae* Sad.). (Bull. de l'agricult. T. XIX. 1903. Livr. 5. p. 692—695. 2 Taf.)
- Busse, Walter**, Ueber die Krankheiten der Sorghumhirse in Deutsch-Ostafrika. (Der Tropenpflanzer. Jg. VII. 1903. N. 11. p. 517—526.)
- Die Krankheiten und Schädigungen der Kulturpflanzen in Westfalen im Jahre 1903. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. LX. 1903. N. 45. p. 592—593; N. 46. p. 607—609.)
- Die Weinbauverhältnisse in den durch die Reblaus verseuchten Gebieten Mährens. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XX. 1903. N. 45. p. 458—459.)
- Dürre, M.**, Beschreibung von Biologien schädlicher und nützlicher Insekten. Für den Gebrauch in Volksschulen. Berlin (Winckelmann) 1903. 48 p. 3°. —, 80 M.
- Ein Mittel zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXI. 1903. N. 45. p. 475.)
- Fraggatt, Walter W.**, Report of the entomologist. (Agricult. gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 9. p. 797—803. 1 Taf.)
- Fuller, C.**, Collar rot of the orange. (Agricult. Journ. and Min. Rec. Vol. VI. 1903. N. 5. p. 150—151.)

- Hecke, Ludwig**, Beizversuche gegen Hirsebrand. (Ztschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VI. 1903. Heft 11. p. 765—777.)
- Krasser, Fridolin**, Die Phthiriose des Weinstockes. (Oesterreich. landw. Wechnbl. Jg. XXIX. 1903. N. 44. p. 348—349.)
- Laudrey, A. E. P.**, Gall worms in roots of plants. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXIII. 1903. N. 4. p. 468—469.)
- Laurent, Emile**, Une maladie bactérienne du fraisier. (Bull. de l'agricult. T. XIX. 1903. Livr. 5. p. 689—691.)
- Lounsbury, C. P.**, Legislation to exclude plant pests. The new Cape Regulations. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXIII. 1903. N. 4. p. 399—404.)
- Marchal, Paul**, Sur la biologie des Hydrellia (Dipt.) Dégâts exercés sur le Cresson par l'Hydrellia ranunculi Hal. (Bull. de la soc. entomol. de France. 1903. N. 14. p. 236—237. 3 Fig.)
- , Une nouvelle Bructe nuisible aux plantes fourragères (*Laria brachialis* Fähr.) (Bull. de la soc. entomol. de France. 1903. N. 14. p. 229.)
- Poskin**, Le chancre du peuplier du Canada. (Bull. de l'agricult. T. XIX. 1903. Livr. 5. p. 696—704.)
- Rörig, G.**, Ueber Schutzmäntel für Kiefern gegen Engerlingsfraß. (Forstwirtschaftl. Centralbl. Jg. XLVII. 1903. Heft 11. p. 556—564. 2 Taf. u. 2 Fig.)
- Soll man den Hopfen zur Verhütung der durch Blattläuse und Schwärze bedingten Gefahr mit Seifenlösungen bespritzen? (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 11. p. 121—126.)
- The diseases of stock and how to treat them. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXIII. 1903. N. 5. p. 577—584.)
- The witches' broom disease of cacao. (Agricult. News. Barbado. Vol. II. 1903. N. 26. p. 117. 1 Fig.)
- The working of the scab act. Failure to Eradicate the disease. Suggestions for the Future. (Agricult. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXIII. 1903. N. 5. p. 558—570.)
- Vaňha, J.**, Der echte Mehltau der Rübe. (Eine neue Rübenkrankheit.) (Blätter f. Zuckerrübenbau. Jg. X. 1903. N. 20. p. 309—313. 2 Fig.)
- Woods, A. F.**, Bacterial Spot, a new disease of carnations. (Science. N. S. Vol. XVIII. 1903. N. 460. p. 537—538.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Hefferan, Mary**, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Forts.), p. 397.
- Hunger, F. W. T.**, Die Verbreitung der Mosaikkrankheit infolge der Behandlung des Tabaks, p. 405.
- Omeliński, W.**, Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose, p. 369.
- Sewerin, S. A.**, Gips als ammoniakbindende Substanz bei der Verrottung des Stallmistes, p. 389.

Sächting, H., Kritische Studien über die Knöllchenbakterien, p. 377.

Referate.

- Godlewski sen., Emil**, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. p. 409.
- Horlitzka**, Sull' isolamento di un corpo glicolitico dal *Saccharomyces cerevisiae*, p. 412.
- Jahn**, Der Zellbau und die Fortpflanzung der Hefe, p. 411.

Neue Litteratur, p. 413.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XI. Band.

Jena, den 9. Februar 1904.

No. 14/15.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Kritische Studien über die Knöllchenbakterien.

[Mitteilung aus dem Institute für Versuchswesen und Bakteriologie
an der kgl. landw. Hochschule zu Berlin.]

Von **H. Süchtling**, Assistenten am Institute.

(Fortsetzung.)

Im Gegensatz zur Hiltnerschen Immunitätstheorie meine
ich nun gemäß dem soeben Ausgeführten, daß die Knöllchenbildung
der Zahl nach dem Gleichgewichtsgesetz gemäß, d. h. durch
den Gleichgewichtszustand¹⁾ zwischen Antikörpern

1) Beijerinck gebührt das Verdienst, auf den Gleichgewichtszustand zu-
erst hingewiesen zu haben, er sagt (Bot. Zeitung. 1888): „Wenn die lebende
Pflanzenzelle von einem anderen Organismus Nutzen ziehen soll, welcher, wie im
vorliegenden Falle, als Teil des Protoplasmas auftritt, so muß ein sehr subtiles
Gleichgewicht zwischen dem Wachstum von beiden bestehen.“

der Pflanze und Infektionsstoffen der Bakterien geregelt wird.

Sehen wir nun zunächst, inwieweit die von Hiltner angeführten Erscheinungen, die seine Immunitätslehre begründen sollen, hierzu ausreichen und ob sich dieselben durch das soeben angegebene Gleichgewichtsgesetz erklären lassen.

Zunächst konnte Hiltner beobachten, daß Erlenpflanzen in stickstofffreier Nährlösung, wo deren Knöllchenbakterien volle Wirksamkeit besitzen, an den sich bildenden neuen Wurzeln keine Neuinfektion aufwiesen, obgleich wiederholt eine Impfung erfolgte, die bei knöllchenfreien Erlen sofort Infektion bewirkte. Erst gegen Herbst, als die Blätter anfangen gelb zu werden und die Pflanze ihr Wachstum und somit auch die Bakterien in den Knöllchen ihre Tätigkeit einstellen, überdeckten sich zahlreiche Wurzeln mit Knöllchen. Eine andere Erscheinung zeigte sich bei Robinia-Pflanzen, die ebenfalls in Nährlösung gehalten wurden, in welcher die Bakterien dieser Pflanze nur in geringem Maße den Stickstoff der Luft binden. Entfernt man aber so viel Lösung, daß die gebildeten Knöllchen sich in der Luft befinden, so beginnen deren Bakterien sofort ihre stickstoffsammelnde Tätigkeit. Es zeigte sich nun, daß bei den Pflanzen, die oberhalb der Wasserschicht in Tätigkeit befindliche Knöllchen besaßen, die im Wasser vorhandenen Wurzelorgane fast ganz knöllchenfrei waren, während bei den anderen Pflanzen, deren ganzes Wurzelsystem in das Wasser eintauchte, die Knöllchen sehr zahlreich über alle Wurzeln verteilt saßen. Die richtige Schlußfolgerung aus diesen Beobachtungen ist die, daß tätige Knöllchen weitere Infektion verhindern, also wie es der Hiltnersche Satz besagt, aber andererseits sieht man auch, daß die Art der Immunisierung, ob durch Bakterien direkt oder durch die Pflanze veranlaßt, hierdurch keine Erklärung finden kann. Die Beobachtungen sprechen demnach auch nicht gegen meine Anschauung, lassen sich vielmehr durch das Gesetz des Gleichgewichtes zwischen Pflanze und Bakterien zwanglos deuten: Die Bakterien wirken hier in den schon vorhandenen Knöllchen als sekundärer Faktor, indem sie die Pflanze mit Stickstoff versorgen. Dadurch erlangt diese erst die Fähigkeit, durch ausreichende Produktion von Antikörpern zur Vernichtung der Infektionsstoffe der Bakterien den Gleichgewichtszustand, d. h. die Immunisierung gegen weitere Infektion herzustellen.

Des weiteren führt Hiltner als Stütze seiner Theorie die Stellungsverhältnisse der Knöllchen an den Wurzeln an, aber es ist ohne weiteres klar, daß auch hierdurch nicht bewiesen werden kann, daß ein von den Bakteroiden ausgeschiedener Stoff die Immunität bewirkt. Die Stellungsverhältnisse der Knöllchen am Wurzelsystem sind überhaupt lediglich als Funktion der zeitlich verschiedenen Infektion anzusehen; wie diese letztere zustande kommt, darauf komme ich in einem anderen Teil dieser Arbeit noch zurück.

Schließlich führt Hiltner dann an, daß der Ernährungszustand der Pflanze von großem Einfluß auf die Knöllchenbildung ist und er kommt hier zu der Streitfrage über die Einwirkung des Salpeters auf die Knöllchenbildung. Merkwürdigerweise bringt

Hiltner die diesbezüglichen Erscheinungen mit seiner Immunitätstheorie in Zusammenhang. Die bekannte Tatsache ist die, daß in salpeterhaltigen Nährmedien die Pflanze eine erheblich geringere Anzahl Knöllchen ausbildet. Es ist also eine analoge Erscheinung hier vorhanden wie bei der Immunisierung durch tätige Knöllchen, nur daß hier eben statt der tätigen Knöllchen der Salpeter die indirekte Ursache der Immunisierung ist. Hiltner zieht nun aus dieser Tatsache den Schluß, daß nicht allein die Förderung der Pflanze, sondern auch die von den Bakteroiden in den Knöllchen ausgeschiedenen Stoffe die Immunität bewirken müssen¹⁾. Für diese Annahme sind in der angeführten Tatsache keine Anhaltspunkte gegeben, viel eher könnte der Schluß berechtigt sein, daß gerade die Pflanze durch kräftige Ernährung diese Immunität bewirkt, aber selbst dies ist keine einwandfreie Schlußfolgerung, solange nicht die direkte schädliche Einwirkung des Salpeters auf die Bakterien als nicht vorhanden erwiesen ist.

Soweit die Belege Hiltners für seine Immunitätslehre! Ich glaube zur Genüge gezeigt zu haben, daß der exakte Nachweis, daß in der Tat von den Bakteroiden ausgeschiedene Stoffe die Immunisierung bewirken, in keinem der angeführten Versuche enthalten ist. Diese Frage bleibt völlig offen, die Versuchsergebnisse widersprechen auch durchaus nicht dem Gleichgewichtsgesetz, man könnte im Gegenteil dieses Gesetz aus den angeführten Erscheinungen direkt ableiten.

Zu diesem schwerwiegenden Moment, daß der exakte Beweis für die Immunitätstheorie durch direkte Bakterieneinwirkung bis jetzt aussteht, und meiner Ansicht nach ist dieser Beweis überhaupt nicht zu führen, kommen nun aber noch Erscheinungen, die nur durch das Gleichgewichtsgesetz eine Erklärung finden können.

Daß die Pflanze, und zwar allein diese, die maßgebende Ursache der Immunisierung ist, und daß die Ernährung, hier die Ernährung mit Stickstoff²⁾ den Ausschlag gibt, dafür sind Erscheinungen vorhanden, die außerhalb des Erklärungsbereiches der Hiltnerschen Immunitätslehre liegen. Zunächst erwähne ich die Erscheinung, welche eintritt, wenn man Keimpflanzen mit schwach virulenten Bakterien impft: die Pflanze vermag hier denselben vermöge des Stickstoffvorrates im Samen und Boden so lange Widerstand zu leisten, bis diese Quelle nicht mehr ausreicht, dann erst tritt durch Schwächung oder vielmehr Zurückbleiben der Pflanze Infektion ein. Hier sieht man ohne weiteres, daß die Pflanze selbst und, als zweiter Faktor, die Ernährung mit Stickstoff mit der Infektion in ursächlichem Zusammenhang stehen, ohne Vermittelung der Bakterien. Ein zweites Analogon, das diese Verhältnisse sehr deutlich zeigt, ist eine Erscheinung, auf die auch Frank hingewiesen hat, nämlich, weshalb nicht sämtliche Wurzeln mit Knöll-

1) l. c. Bd. I. Heft 2. p. 210.

2) Daß die Zufuhr der anderen Nährstoffe, und überhaupt das Fehlen oder Vorhandensein aller Wachstumsbedingungen, die gleiche Rolle wie die Stickstoffernährung spielt, ist als sicher anzunehmen, da der Mangel an Stickstoff hier nur, ebenso wie dies bei dem Fehlen anderer Wachstumsbedingungen der Fall wäre, eine Schwächung der Pflanze verursacht.

chen übersät werden. Hiltner meint, diese Tatsache ließe sich leicht durch seine Immunitätslehre deuten. Nehmen wir deshalb gleich einen Fall, auf den die Immunitätstheorie keine Anwendung finden kann, aber doch einen Vorgang, den jeder, der sich mit diesen Dingen befaßt, jederzeit verfolgen kann, der auch bei meinen Untersuchungen bei allen geimpften Kulturen in die Erscheinung treten mußte. Impft man eine in bakterienfreiem Boden gewachsene Keimpflanze, die schon ein verzweigtes Wurzelsystem ausgebildet hat, so ist den Bakterien die Möglichkeit gegeben, die Pflanze überall zu infizieren, trotzdem kommt es nur zur Ausbildung einer bestimmten Anzahl von Knöllchen. Hier versagt naturgemäß die Hiltnersche Immunitätstheorie ebenfalls. Hier kann die gegenwärtige Einwirkung der Bakterien auf einander nicht das regelnde Prinzip sein, durch das die Knöllchenbildung ihrer Zahl nach bestimmt wird. Hier ist die Pflanze allein in der Lage, diesen Gleichgewichtszustand herzustellen, und die Erscheinung¹⁾, daß das Wurzelsystem und nicht nur dieses, sondern auch anfangs die ganze Pflanze selbst, die mit einer großen Zahl virulenter Bakterien geimpft wird, kleiner bleibt als ohne diese starke Impfung, deutet darauf hin, daß die Pflanze auf Kosten ihrer Substanz den übermäßigen Angriff der Bakterien abhält, bis die in den ausgebildeten Knöllchen enthaltenen Bakterien selbst sie in den Stand versetzen, nunmehr vermöge der durch den zufließenden Stickstoff gebesserten Ernährung weitere Infektion in die Schranken zurückzuweisen, wie sie das Gesetz des Gleichgewichtszustandes vorzeichnet. Daß tätige Knöllchen und leicht assimilierbarer Stickstoff sich in ihren Funktion bei der Immunisierung vertreten können, zeigt ferner auch noch der Umstand, daß es bei Düngung der Pflanze mit Salpeter nur zu beschränkter Knöllchenbildung kommt, worauf ich auch weiter oben schon hinwies.

Es geht demnach aus diesen Ausführungen hervor, daß es unnötig ist, eine Sonderstellung der gegenseitigen Bakterieneinwirkung durch Einführung der Immunitätstheorie in der Hiltnerschen Fassung zu schaffen, noch dazu, da der exakte Beweis für die Gültigkeit dieses Gesetzes bis heute nicht erbracht ist. Wenn die Pflanze in ihrem Jugendstadium, wie wir gesehen haben, allein in der Lage ist, die Immunisierung zu bewirken, so ist nicht einzusehen, weshalb sie diese für sie so wichtige Rolle später den Bakterien abtreten soll.

Wenn auch manche Erscheinungen im Sinne Hiltners eine Erklärung finden können, so muß hierbei hervorgehoben werden, daß alle diese Erscheinungen durch das Gesetz des Gleichgewichts nicht minder gut gedeutet werden können, und berücksichtigt man, daß andere Erscheinungen, die ich oben anführte, nicht durch die Hiltnersche Immunitätstheorie, wohl aber durch das Gleichgewichtsgesetz erklärt werden, so ist ersichtlich, daß die Immunitätshypothese im Sinne Hiltners überflüssig erscheint, da dieselbe

1) Diese Erscheinung zeigte sich bei meinen Versuchen besonders scharf ausgeprägt bei geimpften und ungeimpften Pferdebohnen. Die letzteren überflügeln die geimpften im Anfang um ein sehr erhebliches Stück, bis schließlich, nachdem die Stickstoffsammlung der eingedrungenen Bakterien einsetzte, das umgekehrte Verhältnis sich ausbildete.

in einem anderen umfangreicheren Gesetz implicate schon enthalten ist. Ueberhaupt hat sich der Satz von dem Gleichgewichtszustand zwischen Antikörpern der Pflanze und Infektionsstoffen der Bakterien von einer Allgemeingültigkeit erwiesen, die ihn äußerst wertvoll erscheinen läßt.

Um nun auf die schon angedeutete Salpeterstreitfrage zurückzukommen, so ist die eine, besonders von Remy¹⁾ vertretene Anschauung die, daß die Pflanze durch den leicht aufnehmbaren Stickstoff des Salpeters in ihrer Ernährung so günstig gestellt wird, daß nur vollvirulente Bakterien dieselbe bei der gesteigerten Abwehrenenergie zu infizieren vermögen, so daß es nur zu einer beschränkten Knöllchenbildung kommt.

Hiltner will auch hier eine direkte, aktive Einwirkung der Pflanze nicht einräumen, sondern sucht zu beweisen, daß der Salpeter auf die Bakterien direkt schädlich wirke.

Zunächst machte Hiltner vergleichende Impfungen mit Bakterien zu Erbsen, die teils in stickstofffreier, teils in stickstoffhaltiger Nährlösung wuchsen. Er fand, daß schon eine minimale Zugabe von Salpeter die Knöllchenbildung vollständig unterdrückte, während in der stickstofffreien Lösung sich reichlich Knöllchen bildeten. War der Salpeter verbraucht, so trat Infektion ein.

Ferner wurden gleichartige Versuche in Sand und sandiger Erde angestellt, bei denen zwar nicht eine völlige Unterdrückung der Knöllchenbildung erzielt wurde; aber die Zahl und Größe der Knöllchen blieb bei Salpeterzugabe kleiner.

Wenn Hiltner nun in diesen Versuchsergebnissen den strikten Beweis dafür erblickt, daß der Salpeter die Bakterien direkt schädige, so muß dieser Schluß mindestens als sehr gewagt hingestellt werden.

Eine Erklärung, wie diese Schädigung eigentlich beschaffen sein soll, ist schwer zu geben wegen Hiltners eigener Angabe, daß der Salpeter die Bakterien keineswegs abtöte, sondern nur eine Infektion verhindere, indem nach Verbrauch des Salpeters Knöllchenbildung eintrete. Das Infektionsvermögen wird also auch nicht vernichtet, es könnte höchstens eine Virulenzschwächung die Folge sein; für diese Annahme fehlen die Beweise in seinen Versuchen. Bei der Besprechung meiner eigenen Versuche werde ich hierauf zurückkommen und dartun können, daß auch die Annahme einer Virulenzschwächung nichtig ist.

Vorläufig sieht man hier also, daß die Annahme von der direkten schädlichen Einwirkung des Salpeters auf die Bakterien eine durch nichts gestützte Hypothese ist. Ebenso wohl kann das Ausbleiben der Knöllchenbildung bei Salpeterdüngung im Sinne Remys als durch kräftigere Ernährung der Pflanze verursacht gedeutet werden und würde dann mit dem Gleichgewichtsgesetz in ursächlichster Beziehung stehen. Hiltner zieht es vor, für die fraglichen Erscheinungen, die, wie ich angeführt habe, nach dieser einen Theorie der Gleichgewichtsbedingung verlaufen, drei Einzelhypothesen zur Erklärung heranzuziehen.

Aber neuerdings²⁾ scheinen Hiltner doch Zweifel ob der

1) Remy, Deutsche Landwirtschaftliche Presse. Jahrg. 1902. No. 6.

2) Hiltner und Störmer, Arbeiten der biolog. Abteilung etc. Bd. III. Heft 3. p. 291.

Gültigkeit seiner Behauptung von der Salpeterschädigung zu kommen, denn er will jetzt das, was er vorher als Beweis hinstellte, lediglich als Vermutung gedeutet wissen, versucht aber dennoch zugleich auf einem zweifellos besseren Wege seine Behauptung von neuem zu begründen.

Er hat nämlich einen Versuch mit Soja-Bohnen gemacht, in dem er nachweisen will, daß die Soja-Bakterien durch Züchtung auf salpeterhaltigem Nährboden eine Virulenzschwächung erfahren haben. Es ist demnach seiner Ansicht nach bei den Soja-Bakterien der direkte Nachweis geliefert, daß der Salpeter die Bakterien schädigt.

Indessen ist bei diesem Versuch die Art der Feststellung der Virulenzschwächung durch Auszählen der Knöllchen an den Pflanzen nicht einwandfrei; nähere Ausführungen hierüber muß ich sogleich bei der Besprechung anderer Versuche weiter unten bringen. Es kann demnach auch dieser Versuch nicht als Beweis für seine Behauptung gelten.

Nobbe und Richter¹⁾ haben neuerdings ebenfalls Untersuchungen über den Einfluß des Nitrastickstoffs auf den Impferfolg bei Leguminosen angestellt. Diese Forscher finden hier bei der Soja-Bohne mit zunehmender Stickstoffdüngung eine Abnahme der Impfwirkung.

Wenn diese Versuche auch nicht direkt mit der Salpeterstreitfrage in Zusammenhang stehen, so zeigen sie doch, daß die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff eine durchgreifende Rolle spielt, und daß die Pflanze leicht assimilierbaren Bodenstickstoff dem durch Bakterien gelieferten Stickstoff vorzieht, eine Tatsache, die mit dem Kampfverhältnis zwischen Pflanze und Bakterien und dem Gleichgewichtsgesetz in bestem Einklange steht.

Vergleichende Untersuchungen über die Virulenz und Virulenzänderung der Bakterien bei der Züchtung auf künstlichen Nährböden hat ebenfalls Hiltner²⁾ angestellt. Besonders die von Remy gemachte Beobachtung, daß direkt aus Knöllchen auf die Pflanze übertragene Bakterien virulenter seien wie auf Nährböden in Reinkultur gezüchtete, hat Hiltner einer Nachprüfung unterzogen, und zwar durch Topf- wie Feldversuche mit der Soja-Bohne.

Bei den drei angestellten Topfversuchen zunächst konnte Hiltner in allen Fällen eine größere Wirkung der Reinkulturen konstatieren, aber die Ermittlung der Bakterienwirkung ist nicht einwandfrei zu nennen. Bei dem ersten Versuche geschah die Erntermittelung durch Zählen der Früchte und Samen, und die diesbezüglichen Zahlenwerte werden miteinander verglichen. Diese Art der Erntermittelung muß in diesem Falle als zu roh bezeichnet werden: Verschiedenheiten, die durch die Größe der Samen (noch dazu bei derartig geringen Differenzen von im Höchsfalle 9 Samen bei einer Gesamtmenge von 140 Samen) und dadurch bedingte Gewichtsunterschiede, ferner durch den Strohanteil und schließlich besonders noch durch den Stickstoffgehalt bedingt sind, werden hierbei nicht berücksichtigt und können in einer Weise das

1) Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LVI. p. 441—448

2) Arbeiten der biolog. Abteilung etc. Bd. III. Heft 3. p. 279 u. f.

Resultat bezüglich der Frage, welche Bakterien virulenter waren, verändern, wie es nicht zu übersehen ist.

Bei den beiden anderen Versuchen, die Hiltner in dieser Richtung anstellte, findet sich ebenfalls keine gewichtsmäßige Erntermittlung. Hier wird die mittlere Anzahl der Knöllchen einer Pflanze bei den verschieden behandelten Versuchsreihen festgestellt. Diese Ermittlung ergibt, daß die mit zerquetschten Knöllchen geimpften Bohnen pro Pflanze einmal 1 Knöllchen und bei dem anderen Versuche 4,8 resp. 3,8 Knöllchen weniger besitzen. Wenn auch nicht bestritten werden soll, daß Knöllchenmasse und Stickstoffaufnahme der Pflanzen, wenn auch nur bis zu einem gewissen Grade, in Zusammenhang stehen, so kann doch diese Art der Virulenzermittlung genauer Kritik nicht stand halten. Ich habe bei meinen Versuchen die Beobachtung machen können, daß die Lupinen teilweise zwar sehr große Knöllchen an ihren Wurzeln aufzuweisen hatten, daß auch die Zahl derselben schwankte, daß aber keine oder nur geringe Stickstoffassimilation eintrat. Diese Verhältnisse zeigen zur Genüge, daß die Stickstoffernährung und Kräftigung der Pflanze nicht allein durch Knöllchenzahl, sondern auch durch die Virulenz der darin enthaltenen Bakterien bestimmt wird. Auch bei vollvirulenten Bakterien bleiben diese Unterschiede bestehen, und die relative Stickstofffixierung im Verhältnis zur Knöllchenmasse ist ebenfalls verschieden. Bei den erwähnten Versuchen ist aber auch nicht einmal die Masse, sondern nur die Zahl der Knöllchen festgestellt. Als weiteres, den eben angeführten Einwänden gegenüber allerdings geringfügig erscheinendes Moment kommt die Unsicherheit hinzu, die mit der Gewinnung sämtlicher Knöllchen resp. Wurzeln aus dem Erdreiche verbunden ist; Nebenzwurzeln bleiben nur zu oft in der Erde, wenn man nicht außerordentlich zeitraubende und in diesem Falle zwecklose Methoden des Abschlämmens und Absiebens anwenden will. Ganz allgemein muß gesagt werden, daß man nicht in der Lage ist, aus der Knöllchenzahl direkt auf die Masse der Pflanze und auf die durch die jeweilige Virulenz der Bakterien hervorgerufene Stickstoffaufnahme zu schließen, und meine persönliche Ueberzeugung geht dahin, daß man auch in Zukunft nicht mit Hilfe dieser Ermittlung exakte Werte erhält. Aber gesetzt, es wäre dieses doch möglich, so muß ich doch noch eines erwähnen, zumal diese Frage sehr wichtig erscheinen muß, da Hiltner sich dieser Methode sehr oft bedient. Hiltner selbst führt in seiner früheren Arbeit¹⁾ auf p. 220 wörtlich folgendes aus: „Erst wenn wir jede einzelne Pflanzenart von den verschiedensten Standorten sammeln, namentlich von solchen, wo sie besonders gut gedeiht, können wir ein wirklich zutreffendes Bild von ihren Knöllchenverhältnissen gewinnen. Dann erst wird es auch möglich sein, Vergleiche durchzuführen und die sowohl theoretisch wie praktisch nicht unwichtige Frage zu behandeln, wie sich die Gesamtmasse der Knöllchen bei den einzelnen Leguminosenarten unter bestimmten Bodenverhältnissen zu der von ihnen assimilierten Stickstoffmenge verhält.“ Wenn solche Erfahrungen für die Soja-Bohne vorliegen, so mußte wenigstens

1) Arbeiten der biolog. Abteilung des Gesundheitsamtes. Bd. I. Heft 2.

eine genaue Angabe über die Prüfung dieses Gegenstandes als Grundlage für die Benutzung dieser Art der Virulenzfeststellung angeführt werden, in diesem Falle also eine Gegenüberstellung von Knöllchenzahl und Stickstoffaufnahme bei einer genügend großen Anzahl einzelner Pflanzen. Vorläufig jedenfalls kann diese Methode der Ermittlung der Bakterienwirkung auf die Pflanze nicht als exakt gelten, noch dazu bei Virulenzvergleichen sehr virulenter Bakterien. Aus diesem Grunde kann auch das Resultat nicht als einwandfrei gelten, das Hiltner bei einem Feldversuche in Dahlem bezüglich der Frage, ob in Reinkultur gezüchtete oder direkt von Pflanze zu Pflanze übertragene Bakterien virulenter sind, erzielt hat. Ein Vergleich der einzelnen Parallelparzellen¹⁾ zeigt hier deutlich, in wie weiten Grenzen selbst die mittlere Anzahl der Knöllchen an einer Pflanze schwanken kann. Bei einem Feldversuch auf Hochmoorboden, der ebenfalls die Wirkung von Infusen gegenüber Reinkulturen klarlegen sollte, konnte nur von den Früchten und Samen eine Gewichtsermittlung angestellt werden, da das Stroh durch einen Sturm durcheinander geworfen wurde. Hiltner bezeichnet diesen Versuch selbst als aus mehreren Gründen nicht ganz einwandfrei, für uns kann er also unbeachtet bleiben.

Den strikten Beweis, daß die Virulenz durch Züchtung auf künstlichen Nährböden keine Abnahme erfährt, hat Hiltner demnach nicht erbringen können.

Daß die Wirkung der Knöllchenbakterien bei mehrfachem Anbau derselben Pflanze eine Erhöhung erfährt, konnte Hiltner neuerdings wieder bestätigen. Soja-Kulturen, die in Töpfen zum zweiten Male gezogen wurden, wiesen im Verhältnis zu der Ernte des ersten Anbaues in diesem Boden eine um das 10fache größere Trockensubstanzproduktion auf. Hiltner glaubt als wichtigste Ursache dieser Ertragssteigerung nicht die höhere Zahl an Bakterien, sondern die Erhöhung der Virulenz derselben anführen zu müssen.

Soweit die wichtigsten Forschungen über die Knöllchenbakterien und ihre Resultate!

Rein spekulative Erwägungen Hiltners, soweit sie nicht mit experimentellen Untersuchungen in Zusammenhang standen, glaubte ich wohl mit Recht unerwähnt lassen zu können, da diese besser im Original nachgelesen werden und nur als Anregung dienen können.

Auf die neueren Bestrebungen und Versuche, die Leguminosenimpfung in die landwirtschaftliche Praxis einzuführen und die hierbei gemachten Erfahrungen und erzielten Resultate werde ich später noch zu sprechen kommen, ebenso werden sonst irgendwie beachtenswerte Resultate noch im Verlaufe dieser Abhandlung an passender Stelle Erwähnung finden.

II. Eigene Untersuchungen über die Virulenz des *Bacterium radicicola*.

Schon Beijerinck²⁾ konnte bei der Isolierung der Knöllchenbakterien die Beobachtung machen, daß die Bakterien sich durch

1) l. c. p. 282.

2) Botanische Zeitung. Jahrg. XLVI. 1888.

verschiedene Vegetationskraft unterscheiden. Ebenso war diesem Forscher die Annahme geläufig, daß die Bakterien ihrer Virulenz nach, wenn er diese Bezeichnung auch noch nicht gebrauchte, bei der Symbiose auf die Pflanze einwirken, derart, daß es bei sehr virulenten Bakterien zu der von ihm als „Bakterienüberwucherung“ bezeichneten Erscheinung der Knöllchenentleerung kommen kann.

Nach ihm ist nur einmal in der früheren Literatur von Nobbe und seinen Mitarbeitern ¹⁾ auf die „Vegetationskraft“ der Bakterien zur Erklärung einer merkwürdigen Erscheinung zurückgegriffen worden.

Erst neuerdings wieder hat Frank ²⁾ auf die Virulenzverhältnisse der Knöllchenbakterien hingewiesen, und Hiltner ³⁾ und ebenso Remy ⁴⁾ sind experimentell der Erforschung dieser Verhältnisse nähergetreten, wie ich schon angeführt habe.

Indessen sind unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete noch außerordentlich dürftig, lückenhaft und teilweise sich widersprechend, so daß es wünschenswert erscheinen muß, weiteres Tatsachenmaterial über die Wechselwirkungen zwischen Pflanzen und Bakterien und über die physiologischen Veränderungen dieser Mikroben bei der Züchtung auf künstlichen Nährsubstraten beizubringen, und die nachfolgenden Untersuchungen sind in dieser Richtung angestellt.

A. Methoden und Versuchstechnik.

Bevor ich in eine Besprechung der eigenen Versuchsergebnisse eintrete, wird es nötig sein, über die Versuchsanstellung einige Bemerkungen vorausszuschicken.

Es handelte sich in allen Fällen um die Bestimmung der Virulenz der Bakterien. Der einzige Weg, auf dem man zu einer zahlenmäßigen und deshalb exakten Bestimmung der Virulenz, d. h. des Stickstoffsammelungsvermögens, gelangen kann, ist durch den Vegetationsversuch gegeben. Die Stickstoffaufnahme von Pflanzkulturen, die unter sonst absolut gleichen Bedingungen gehalten, aber mit den verschiedenen, zu prüfenden Bakterien geimpft sind, kann als Maßstab für die Virulenz dieser Mikroben gelten. Der Vegetationsversuch bildet deshalb die Grundlage nachfolgender Untersuchungen.

Die Versuche wurden mit drei Leguminosen, der Pferdebohne (*Vicia faba*), der gelben Lupine (*Lupinus luteus*) und der blauen Lupine (*Lupinus angustifolius*) durchgeführt.

Als Vegetationsgefäße wurden solche von Ton benutzt in zwei verschiedenen Größen. Die Gefäße wurden mit etwa 3 kg Quarzkies, den üblichen Einsätzen zur Durchlüftung und zum Begießen und der gleichen Erdmenge, bei den kleinen Töpfen 5—7 kg, bei den großen 14—15 kg Trockenerde beschickt. Der Boden, ein dürriger Sand, stammte von einem außer Kultur befindlichen Streifen Land an der Seestraße in Berlin, er wurde durch Absieben von Steinen und gröberen Beimengungen befreit. Als Grunddüngung erhielten die kleinen Gefäße pro Topf:

1) Landwirtschaftliche Versuchsstationen. Bd. XLII. p. 465.

2) Frank, l. c.

3) Hiltner, Arbeiten aus der biol. Abt. des kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. I. Heft 2. Bd. III. Heft 3.

4) Remy, Deutsche landwirtsch. Presse. 1902. No. 5, 6, 7.

2 g KCl	= 1,05 g K_2O	} zu Lupinen und
6 g Thomasmehl	= 1,08 g P_2O_5	
2 g KCl	= 1,05 g K_2O	} zu Pferdebohnen
2 g Präzipitat	= 1,05 g P_2O_5	
3 g $CaCO_3$	= 1,35 g CaO	

Die großen Gefäße erhielten pro Topf:

2 g KCl	= 1,05 g K_2O	} zu Lupinen und
2 g Präzipitat	= 1,05 g P_2O_5	
2,5 g KCl	= 1,31 g K_2O	} zu Pferdebohnen
3 g Präzipitat	= 1,57 g P_2O_5	
5 g $CaCO_3$	= 2,25 g CaO	

Zwecks Sterilisation wurden alle Gefäße an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Stunde im strömenden Dampf erhitzt und nach dem Sterilisieren in desinfizierte Kammern des Vegetationshauses gebracht, wo sie auch nach dem Bepflanzen bis zum Aufgang der Saat und der dann folgenden Impfung blieben. Später standen die Gefäße mit Reihenabständen auf Wagen, die auf Schienen bei Regen oder starkem Wind in das Vegetationshaus geschoben werden konnten. Das Bepflanzen erfolgte gleichmäßig nach der Schablone mit 18, bei einem Pferdebohnenversuch mit 13 Samen unter den erforderlichen Vorsichtsmaßregeln bezüglich Sterilität. Die auszupflanzenden Samen wurden 5 Minuten mit 0,1 Proz. Sublimat behandelt und nach gründlichem Abspülen mit sterilisiertem Wasser eingelegt. Die Lupinen wurden bei einigen Versuchen vorgekeimt. Für jede Versuchsreihe kamen 2 oder 3 Parallelgefäße in Anwendung. Der Boden wurde bis 60 Proz. der vollen, nach Wahnschaffe bestimmten Kapazität mit Wasser gesättigt und innerhalb der Grenzen von 40—60 Proz. gesättigt erhalten. Begossen wurden die Kulturen stets mit abgekochtem Wasser, die dazu benutzten Geräte wurden nach jedesmaligem Gebrauche eine Stunde im strömenden Dampf auf 100° erhitzt. Je nach Bedarf wurde alle 3—4 Tage der Wassergehalt des Bodens durch Auswägen reguliert.

Während der Vegetation absterbende Pflanzenorgane wurden gesammelt und bei der Ernte mit den Pflanzen die betreffenden Gefäße wieder vereinigt. Um Standortsvielfalt auszugleichen, wurden die einzelnen Töpfe der Reihen, in der Regel zugleich, wenn eine Kontrollierung des Wassergehaltes durch Auswägen erfolgte, umgestellt.

Die Ernte erfolgte im Stadium der Blüte. Nur die zuletzt angesetzten Lupinenkulturen mußten in Anbetracht des sehr kalten und wenig hellen Herbstwetters vorher geerntet werden. Bei der Ernte wurden die Pflanzen mit den Wurzeln aus dem Boden gehoben und durch Abschlännen und Waschen vollständig von anhaftender Erde befreit. In der lufttrockenen Substanz wurde Stickstoff und Trockensubstanz bestimmt; die Stickstoffbestimmung geschah nach der Gunning-Atterbergschen Modifikation der Kjeldahl-Methode. Die Topfernten der Lupinen wurden ohne Ausnahme einzeln untersucht, bei den Pferdebohnen dagegen, sobald die Differenz der Paralleltöpfe etwa 5 Proz. der mittleren Trockensubstanz nicht überschritt, vor der Analyse vereinigt. Das zuletzt genannte Verfahren ist gewiß insofern zu beanstanden, als es eine Vergleichung der

Stickstofferten der Parallelgefäße in den derartig untersuchten Reihen unmöglich macht; berücksichtigt man aber, daß man bei der schließlichen Vergleichung der Versuchsergebnisse in diesen Fällen doch die Mittelernste heranziehen muß, so mag es immerhin angängig erscheinen.

Als Impfmateriel für die Pflanzenkulturen dienten 1) Reinkulturen, 2) Emulsionen zequetschter Knöllchen, 3) Impferde. Die Gewinnung der Reinkulturen geschah in der üblichen Weise, daß steril mit der Platinnadel Bakterienmasse aus den zerschnittenen Knöllchen auf das Nährsubstrat in Gestalt eines Impfstiches übertragen wurde. Die Kulturen waren mit wenigen Ausnahmen dem makroskopischen und mikroskopischen Befunde nach rein. Zur Impfung wurden teils Original- teils übertragene Kulturen benutzt. Alle Kulturen wurden von gut entwickelten Knöllchen der Hauptwurzel isoliert, sofern es sich nicht darum handelte, Kulturen aus Nebenwurzelknöllchen zu erhalten. Für jede Versuchsreihe wurden mehrere aus verschiedenen Knöllchen gleichbehandelter Pflanzen isolierte Kulturen verwendet, um Individualitätsunterschiede zu eliminieren. Zur Impfung wurden 2—3 Platinösen voll Kultur in etwa 300 ccm sterilen Wassers suspendiert.

Die Herstellung der unter 2) genannten Knöllcheninfuse geschah derart, daß von den mit Sublimat behandelten und mit Wasser gründlich abgespülten Wurzeln die Knöllchen abgetrennt, mit sterilem Wasser verrieben und so weit vermischt wurden, bis sich eine mittlere Trübung bestimmter Stärke zeigte. Die Anwendung dieser Knöllcheninfuse geschah von dem Gesichtspunkte aus, die Bakterien unter Umgehung der Züchtung auf künstlichen Nährmedien und dadurch etwa bedingte Veränderungen direkt von Pflanze zu Pflanze zu übertragen. Daß die Versuche mit diesem Impfmittel nicht einwandfrei seien, weil etwa nicht abgetötete Fremdorganismen oder Knöllchenbakterien mithinein geimpft wurden, wird wohl kaum behauptet werden. Denn bei einer so großen Anzahl hochvirulenter Bakterien konnte unbeschadet ein Teil durch Fremdorganismen event. vernichtet werden, und ebenso kamen etwa mitverimpfte Knöllchenbakterien, die äußerlich den Knöllchen anhafteten und aus dem Boden stammten, nicht in Frage, weil dieselben zunächst eine geringere Virulenz als die aus den Knöllchen stammenden besaßen und außerdem mindestens eine starke Beeinträchtigung durch die Sublimatbehandlung erfahren haben mußten.

Die Impferde stammte, wie es im einzelnen angegeben wird, von einem Boden, der die betreffende Leguminose mit Erfolg getragen hatte. Dieselbe wurde derart verwendet, daß 6—8 kg des Bodens mit dem gleichen Gewicht an Wasser innig vermischt und verschlämmt wurden, von diesem Aufguß diente je $\frac{1}{4}$ l zur Impfung eines Topfes, so daß jedes Gefäß das Extrakt von etwa 250 g Boden erhielt; auf den Morgen umgerechnet, ergeben sich so enorm hohe Quantitäten, wie sie in praxi wohl kaum jemals angewendet sind. Die Impfung erfolgte mit nur einer Ausnahme, die an ihrer Stelle Erwähnung finden wird, beim Aufgang der Pflanzen. Um eine bessere Verteilung der Bakterien auch in die tieferen Bodenschichten zu bewirken, wurden die Töpfe nach der Impfung einmal von oben begossen.

Jedem Versuch wurde eine ungeimpfte Parallelreihe beigegeben. Leider ist es bei den Pferdebohnen in keinem Fall gelungen, spontane Infektion ganz zu verhindern. Ich möchte hier aber gleich erwähnen, daß dieser Umstand auf das Endresultat der Pferdebohnenversuche keinen Einfluß haben kann. Zunächst zeigt der Sitz an den Knöllchen an den Endigungen der Nebenwurzeln, daß die Infektion der ungeimpften Pflanzen in allen Fällen erst sehr spät erfolgte, so daß die geimpften Pflanzen zu dieser Zeit schon im Besitz ihres Knöllchenbestandes waren und eine Zufuhr neuer Bakterien eben durch eventuelle spontane Infektion keine Aenderung bewirken konnte. Außerdem aber konnten die spontan hineingekommenen Bakterien besonders deshalb, auch für den möglichen Fall, daß die Infektion in den geimpften Töpfen sehr viel früher erfolgte als in den ungeimpften, die Stickstoffsammlung, auf die es bei diesen Versuchen ja allein ankommt, nicht beeinflussen, weil sie eine geringe Virulenz besaßen, wie schon der Umstand beweist, daß die infizierten ungeimpften Pflanzen nur mäßige oder überhaupt keine Förderung erfuhren. Daß die Virulenz gering war, wird sehr erklärlich, wenn man der Vermutung Raum geben will, daß durch vom Wind verwehten Sand die Bakterien übertragen wurden. In diesem Fall haften sie an einem absolut trockenen Medium, und gerade die Knöllchenbakterien sind gegen Austrocknung sehr empfindlich. Aber auch, wenn die Infektion anderweitig erfolgte, mußte sie ohne Einfluß bleiben, da, wie wir sehen werden, die Bakterien, die im Boden vorhanden waren, in allen Fällen eine geringere Virulenz als die aus Pflanzen stammenden, zur Impfung benutzten besaßen. Man muß bei diesen Versuchen, bei denen es sich um Virulenzvergleichen sehr virulenter Bakterien handelt, berücksichtigen, daß die Verhältnisse hier weit verschieden sind von solchen, z. B. bei der Prüfung der Arteinheit, wo es sich um Infektion oder Nichtinfektion überhaupt handelt.

Anders liegen die Verhältnisse bei den Lupinenversuchen. Hier kamen Bakterien zur Verwendung, die teilweise eine sehr geringe Virulenz besaßen. Hier kann nun zur großen Genugtuung konstatiert werden, daß die ungeimpften Lupinen in keinem Fall spontane Infektion aufwiesen. Daß also hier bei den betreffenden Versuchen durch die zur Impfung benutzten schwach virulenten Bakterien die Knöllchenbildung verursacht wurde, dafür besteht große Wahrscheinlichkeit, die erhöht wird, wenn alle oder die Mehrzahl Pflanzen in den Töpfen Knöllchen tragen.

1. Die Stellungsverhältnisse der Knöllchen am Wurzelsystem und ihre Beziehungen zur Virulenz der Bakterien.

Hiltner hat den Versuch gemacht, mit Hilfe seiner Immunitätstheorie die Erscheinungen der Infektion und der Knöllchenverteilung an den Wurzeln in ein System zu bringen. Ich will hier seinen Immunitätssatz noch einmal anführen, er lautet: „Tätige Knöllchen verleihen der Pflanze Immunität gegen Bakterien von gleichen oder niedrigerem Virulenzgrad als ihn die in den Knöllchen enthaltenen Bakterien schon besitzen, nur Bakterien von

höherer Virulenz vermögen noch in die Pflanzenwurzel einzudringen“. Wenn dieser Satz richtig ist, muß die Virulenz der knöllchenbewohnenden Bakterien sich dem Alter dieser Knöllchen umgekehrt proportional verhalten. Denn die jüngeren Knöllchen an den Nebenwurzeln entstehen größtenteils zu einer Zeit, wo an der Hauptwurzel tätige Knöllchen bereits vorhanden sind; die Bakterien, die diese neue Knöllchenbildung verursacht haben, müssen demnach dem Hiltnerschen Satze gemäß eine höhere Virulenz besitzen als die Bakterien in den Hauptwurzelknöllchen, weil sie sonst die Pflanze nicht hätten infizieren können. Um einen Einblick in diese Verhältnisse zu erlangen, wurden nachfolgende Untersuchungen angestellt, durch die festgestellt werden sollte, ob Bakterien aus jüngeren Knöllchen, wie es der Hiltnersche Satz verlangt, eine höhere Virulenz besitzen als Bakterien aus den zuerst entstandenen, ältesten Knöllchen an den oberen Partien der Hauptwurzel. Es wurden also Bakterien aus Knöllchen von der Haupt- resp. Nebenwurzel einer Pflanze auf ihre Virulenz hin verglichen. Jeder Versuch bestand aus 5 Reihen nach folgendem Plan:

Reihe I ungeimpft,

Reihe II: Impfung mit reinkultivierten Bakterien aus Hauptwurzelknöllchen,

Reihe III: Impfung mit reinkultivierten Bakterien aus Nebenwurzelknöllchen,

Reihe IV: Impfung mit Knöllcheninfus von der Hauptwurzel,

Reihe V: Impfung mit Knöllcheninfus von der Nebenwurzel.

Im ganzen kamen 2 Versuche mit *Vicia faba* und ein Versuch mit *Lupinus luteus* zur Durchführung. Bei dem Lupinenversuch fielen die Reihen II und III aus.

Versuch I.

Die Pferdebohnen für diesen Versuch wurden am 6. Juni in kleine Tongefäße gepflanzt; die Impfung erfolgte beim Aufgang. Die Reinkulturen waren am 6. Juni auf Pflanzenextraktgelatine (Extrakt von grünen Pflanzen 1:10, 10 Proz. Gelatine, Acidität: schwach sauer) isoliert, sie zeigten gutes Wachstum, die Kulturen aus Hauptwurzelknöllchen in höherem Maße, wie die aus Nebenwurzelknöllchen. Die Knöllcheninfuse stammten aus Pflanzen der gleichen Herkunft, die letzteren waren in einem gut gedüngten Boden gewachsen, der virulente Bohnenbakterien enthielt.

Die Vegetation verlief ohne Störung bis zum 6. August, an welchem Tage die Ernte erfolgte.

Versuch II.

Dieser Versuch mit Pferdebohnen wurde nach demselben Plan wie der vorige am 26. Juli begonnen. Die Bohnen wurden in große Tongefäße gepflanzt und beim Aufgang am 1. August geimpft. Die benutzten Reinkulturen waren 10 Tage alt, zeigten gutes Wachstum, ohne indessen Unterschiede in der Wachstumsintensität erkennen zu lassen. Die Knöllcheninfuse wurden aus Pflanzen von gleicher Herkunft, wie die für die Reinkulturen benutzten, gewonnen. Die Ernte der Pferdebohnen erfolgte nach normal verlaufener Vegetation am 24. September.

Tabelle I.

Versuch- No.	Reihe- No.	Impfmittel	Ernte in g lufttr. Sub- stanz	Absolute Trocken- substanz	Proz. N in der Trocken- substanz	Ernte in g N	Bemerkungen zur Knöllchenbildung
Versuch I Versuchspflanze: Pferdebohne	I.	ungeimpft	34,0 44,0 55,0	31,7 41,7 53,5	1,63 1,98 1,48	0,517 0,826 0,792	In der ungeimpften Reihe sind die Pflanzen eines Topfs knöllchenfrei bis auf eine; diese trägt eine kleine Knöllchengruppe an der Nebenwurzel. Die Pflanzen der anderen 2 Töpfe tragen zur Hälfte etwa kleine Knöllchen an einzelnen Nebenwurzeln, zur anderen Hälfte sind sie knöllchenfrei. Bei den geimpften Reihen kein greifbarer Unterschied. Alle Pflanzen tragen reichlich große, gut entwickelte Knöllchen an Haupt- wie Nebenwurzeln.
	II.	Reinkultur aus Knöllchen von der Hauptwurzel	68,0 76,5 81,0	62,0 71,8	2,95 2,95	1,829 2,118	
	III.	Reinkultur aus Knöllchen von der Nebenwurzel	72,0 75,5 73,0	66,1	3,01	1,990	
	IV.	Knöllcheninfus von der Hauptwurzel	54,5 65,0 57,0	48,7 59,3 51,6	2,91 2,96 3,02	1,417 1,755 1,558	
	V.	Knöllcheninfus von der Nebenwurzel	58,0 60,0 68,0	57,8	2,97	1,717	
Versuch II. Versuchspflanze: Pferdebohne	I.	ungeimpft	35,5 34,2	32,8	2,15	0,705	In der ungeimpften Reihe tragen einzelne Pflanzen in beiden Töpfen kleine Knöllchen an den Nebenwurzeln. Die geimpften Pflanzen aller Reihen lassen keinen Unterschied in der Knöllchenbildung erkennen. Starker Besatz der Haupt- und Nebenwurzeln.
	II.	Reinkultur aus Hauptwurzelknöllchen	63,0 59,5	58,4	2,42	1,413	
	III.	Reinkultur aus Nebenwurzelknöllchen	57,0 64,0	52,8 59,4	2,57 2,47	1,357 1,467	
	IV.	Knöllcheninfus von der Hauptwurzel	71,5 87,0	66,6 81,2	2,41 2,29	1,605 1,859	
	V.	Knöllcheninfus von der Nebenwurzel	64,5 69,0	63,4	2,39	1,515	
Versuch III. Versuchspflanze: Lupine	I.	ungeimpft	9,0 7,6 12,0	8,5 7,2 10,7	1,74 1,70 1,75	0,148 0,122 0,187	knöllchenfrei. Kein Unterschied in der Knöllchenbildung.
	II.	Knöllcheninfus von der Hauptwurzel	45,8 42,0 55,8	40,1 39,1 49,0	4,21 3,93 3,80	1,688 1,537 1,862	
	III.	Knöllcheninfus von der Nebenwurzel	59,5 51,5	54,3 48,2	4,01 4,29	2,177 2,068	

Versuch III.

Der Lupinenversuch gelangte in großen Tongefäßen in drei Reihen zur Ausführung. Das Einpflanzen geschah am 8. August, die Impfung mit den entsprechenden Knöllcheninfusen am 15. August. Die Ernte erfolgte am 5. November. Die Pflanzen hatten sich in den letzten Wochen der Vegetation wegen des kalten Wetters nicht sehr viel weiter entwickelt, sie trugen bei der Ernte im Durchschnitt, mit Ausnahme der ungeimpften, 7—8 Blätter, die am weitesten entwickelten der dritten Reihe 8—9 Blätter. Das Resultat dieser 3 Versuche enthält Tabelle I (siehe p. 430).

Aus den Zahlenwerten ist zu ersehen, daß die Pferdebohnenversuche zunächst auf die Versuchsfrage eine verschiedene Antwort geben. Die Reihen mit Reinkulturen als Impfmittel ergeben in beiden Versuchen etwa gleich hohe Ernte sowohl an Stickstoff wie Trockensubstanz in den zu vergleichenden Reihen II und III. Bei den mit Knöllcheninfusen geimpften Reihen haben einmal die Bakterien der Hauptwurzelknöllchen bei Versuch II höhere Stickstoffsammlung bewirkt, bei Versuch I scheint das Umgekehrte in geringem Maße der Fall zu sein. Der Lupinenversuch zeigt zweifelsfrei die Ueberlegenheit der aus Nebenwurzelknöllchen gewonnenen Bakterien im Stickstoffsammelungsvermögen. Wenn auch die Uebereinstimmung der Ernten der Parallelgefäße in der zweiten Reihe besser sein könnte, so ist hier doch der niedrigste Wert der dritten Reihe mit 2,068 g Stickstoff dem höchsten Wert der Reihe II mit 1,862 g um 0,2 g überlegen, und dementsprechend ergeben die Mittelwerte aus den Parallelgefäßen eine um 0,4 g Stickstoff höhere Ernte in der dritten Reihe.

Die Versuchsergebnisse stehen demnach nur teilweise im Einklang mit dem Hiltnerschen Immunitätssatz, und zwar in einwandfreier Weise nur der Lupinenversuch. Bei den Versuchen, die annähernd gleiche Produktion an Trockensubstanz und Stickstoff bei den in Vergleich kommenden Reihen ergeben, kann allerdings der Einwand erhoben werden, daß die eventuelle höhere Virulenz der später eingedrungenen Nebenwurzelbakterien, die eine höhere Stickstoffsammlung der Pflanzenkulturen bedingt, wegen ihres geringen Größenunterschiedes durch den Vegetationsversuch nicht mehr meßbar ist. Ich komme später noch in die Lage, auf das Versagen des Topfversuches wieder hinweisen zu müssen, wo es sich um Differenzierung kleiner Stickstoffmengen handelt. Diese Versuche sprechen demnach auch nicht in einwandfreier Weise gegen die Immunitätslehre, und so würde dies nur bei Versuch II in den Reihen IV und V der Fall sein.

Ich habe nun schon darauf hingewiesen, daß der Immunitätssatz in der Hiltnerschen Form lediglich eine durch nichts gestützte Annahme bildet, und daß die Erscheinungen, die dadurch eine Erklärung finden sollen, gleich gut durch das Gleichgewichtsgesetz gedeutet werden können. Die vorliegenden Versuchsergebnisse lassen sich nun ebenfalls im Sinne dieser Theorie sehr leicht erklären, während dies bei Hinzuziehen der Hiltnerschen Immunitätstheorie auf Schwierigkeiten stößt.

Hier drängt sich uns nämlich unwillkürlich die Frage auf, ob die

Virulenz der Bakterien überhaupt primär mit der Verteilung der Knöllchen am Wurzelsystem zusammenhängt, in der Weise, wie die Immunitätstheorie es vorschreibt. Diese Frage muß verneint werden. Die Knöllchenbildung wird dem Gleichgewichtssatz gemäß, wie ich im ersten Teil dieser Abhandlung des näheren ausgeführt habe, durch die Pflanze geregelt. Für die Annahme, daß die Knöllchenbildung und demnach auch die Verteilung der Knöllchen am Wurzelsystem durch die Virulenz der Bakterien bedingt ist, liegt absolut kein Grund vor, da die Immunitätstheorie Hiltners, wie im ersten Teil dieser Arbeit nachgewiesen, lediglich eine unwahrscheinlich klingende Sonderhypothese darstellt. Es soll zwar nicht in Abrede gestellt werden, daß die Virulenz bei diesem Vorgang ebenfalls eine Rolle spielen kann, indem der Gleichgewichtszustand durch die höhere Virulenz der Bakterien eine Verschiebung, allerdings nur bis zu einem ganz bestimmten größtmöglichen Grade, der von der Vegetationsenergie der Pflanze abhängt, erfährt, so daß wohl eine spätere Infektion durch virulentere Bakterien möglich ist.

Die Virulenz hat bei diesem Prozeß demnach den Charakter einer zufälligen Einwirkung, nämlich je nachdem sehr virulente Bakterien an der einen oder anderen Stelle mit der Pflanzenwurzel, ob Haupt- oder Nebenwurzel, in Berührung kommen und vermöge ihrer hohen Virulenz in der Lage sind, die Antikörper der Pflanze zu neutralisieren und in die Pflanzenwurzel einzudringen.

Das Gesetzmäßige bei den Stellungsverhältnissen der Knöllchen am Wurzelsystem ist dagegen in der zeitlich verschiedenen Infektion zu finden, und da diese nach dem Gleichgewichtsgesetz durch die Pflanze geregelt wird, schließlich in diesem Gesetz selbst.

Gemäß dieser Gleichgewichtsregel wird nun in dem hier speziell vorliegenden Fall die Bildung von Nebenwurzelknöllchen¹⁾, d. h. bei der Neuanlage von Knöllchen im späteren Alter der Pflanze der steigende Bedarf der letzteren an Stickstoff die Ursache sein, daß durch eine Schwankung, ein Oscillieren um die Gleichgewichtslage, das aber genügt, um das Gleichgewicht zwischen Pflanze und Bakterien, d. h. Antikörpern der Pflanze und Infektionsstoffen der Bakterien, zu zerstören, eine neue Reaktion, d. h. Neuinfektion ausgelöst wird.

Wenn die Verhältnisse so liegen — und widersprechende Tatsachen lassen sich meines Wissens gegen diese Annahme nicht ins Feld führen — so werden auch die Versuchsergebnisse in diesem Sinne erklärlich, welche andeuten, daß die Bakterien sich nicht dem Alter der Knöllchen, in denen sie sich vorfinden, umgekehrt proportional in ihrer Virulenz verhalten.

Im Anschluß an diese Versuche muß ich noch einen zweiten Satz von Hiltner erwähnen, welcher lautet: Um wirksames, virulentes Impfmateriel zu erhalten, muß man die Ausgangskultur aus möglichst frühzeitig entstandenen Knöllchen der Hauptwurzel gewinnen, und es würde ein großer Fehler sein, die Reinkulturen aus beliebigen, oder gar aus solchen Knöllchen zu gewinnen, die

1) Damit soll eine Bildung von Knöllchen an den unteren Partien der Hauptwurzel in diesem Stadium der Pflanzenentwicklung nicht ausgeschlossen sein.

tief und an den Endigungen der Seitenwurzeln sitzen. Gegen diesen Satz in dieser Form sprechen die in vorliegendem Abschnitt angeführten Versuchsergebnisse auf das entschiedenste. Er muß dahin präzisiert werden, daß nur für den Fall, daß die Hauptwurzel ganz frei ist von Knöllchen, die Bakterien in den Nebenwurzeln nur schwache Virulenz besitzen, deshalb als Impfmateriale ungeeignet sein können und es in der Regel¹⁾ auch sind. Es ist wohl anzunehmen, daß auch Hiltner diesen speziellen Fall im Auge gehabt hat, da andernfalls ein Widerspruch dieses Satzes mit seiner Immunitätstheorie vorliegt.

2. Beeinflussung der Virulenz der Bakterien während der Symbiose mit der Pflanze.

a) Mehrfache Passage der Bakterien durch die Pflanze.

Wenn die Virulenz der Knöllchenbakterien innerhalb ziemlich weiter Grenzen schwankt, und manche Erscheinungen²⁾ machen diese Annahme zur Gewißheit, so kann das Bakterium diese physiologische Veränderung in aufsteigender Richtung nur in Symbiose mit der Pflanze erfahren, wenn man einen Analogieschluß von den am besten studierten pathogenen Bakterien auf diesen Mikroorganismus zulassen will. Es ist eine bekannte Tatsache, daß künstliche Züchtung außerhalb der natürlichen Wachstumsbedingungen mehr oder minder auf die Virulenz der Krankheitserreger schädigend einwirkt, und, wo es sich um die Gewinnung besonders infektionstüchtiger Bakterien handelt, entnimmt man dieselben stets dem Tierkörper, den sie mehrfach passiert haben.

Nach den oben zitierten Versuchen von Nobbe und Hiltner muß man annehmen, daß ebenso wie die Krankheitserreger im Wirtskörper eine Virulenzsteigerung erfahren, so auch in dem gegenseitigen Verhältnis der Papilionaceen und ihrer Knöllchenerreger ähnliche, wenn nicht gleiche Einwirkungen vorhanden sein müssen, während dagegen bis heute, ebenfalls in Analogie mit den Erfahrungen, die man mit den pathogenen Bakterien gemacht hat, nichts darauf hindeutet, daß die Knöllchenbakterien auch außerhalb der Pflanzenwurzel bei der Züchtung auf Nährmedien eine Virulenzzunahme erfahren können.

Zunächst wurde ein Versuch eingeleitet zur Prüfung der Frage, ob voll virulente Bakterien durch mehrfache Passage durch die Pflanze eine Steigerung ihrer Virulenz erfahren. Der Versuchsanstellung lag folgender Plan zu Grunde: Der ganze Versuch

1) Eine Ausnahme kann z. B. die Knöllchenverteilung an den Wurzeln erst mindestens nach dem Aufgang geimpfter Pflanzen bilden, die vorher wegen Fehlens von Bakterien im Boden nicht infiziert werden konnten. Derartige Erscheinungen habe ich bei den beim Aufgang geimpften Pflanzenkulturen der in dieser Arbeit mitgeteilten Versuche verschiedentlich beobachten können. In diesem Fall war die Hauptwurzel völlig knöllchenfrei und nur die Nebenwurzeln reichlich mit Knöllchen besetzt. Die Bakterien in diesen Anschwellungen besaßen trotz der oben charakterisierten Stellung der Knöllchen eine hohe Virulenz.

2) Siehe z. B. Nobbe und Hiltner, Künstliche Ueberführung der Knöllchenbakterien von Erbsen in solche von Bohnen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 449 f.)

gelangte in 4 Reihen zu je 2 Gefäßen zur Durchführung, derart, daß die einzelnen Reihen bakteriell folgendermaßen behandelt wurden, wobei der Boden unsterilisiert blieb: Reihe I: ungeimpft, Reihe II: Impfung mit einmal durch die Pflanze geschickten Bakterien, Reihe III: ungeimpft, Reihe IV: Impfung mit zweimal durch die Pflanze gegangenen Bakterien. Als Vergleich für die Virulenz der zur Impfung der Reihen II und IV benutzten Bakterien diente demnach die Stickstoffsammlung der spontan im Boden vorhandenen Bakterien mit den Pflanzen der Reihen I resp. III. Da der Boden gut gemischt und durchaus gleich behandelt war, und die entsprechenden Vergleichskulturen gleiche Vegetationsbedingungen hatten, so war der erwähnte Maßstab für die Virulenz anwendbar.

Die Erde entstammte für diesen Versuch dem Berliner Versuchsfeldboden und enthielt für die Versuchspflanze *Vicia faba* voll virulente Bakterien. Die Bepflanzung erfolgte bei den ersten 2 Reihen am 3. Juni, bei den anderen Reihen am 18. Juni. Die 2. und 4. Reihe wurden nicht beim Aufgang, sondern bei der Einsaat mit Knöllcheninfusen geimpft. Diese Modifikation bei der Impfung geschah deshalb, weil der Boden nicht sterilisiert war und deshalb virulente Bakterien schon enthielt; nm den zu prüfenden Bakterien Gelegenheit zu geben, die Pflanze sofort zu infizieren, wurde die Impfung bei Beginn des Versuches vollzogen. Die Knöllcheninfuse stammten für Reihe II von gut entwickelten Pferdebohnenpflanzen für Reihe IV von den Pflanzen eines gleichzeitig mit Reihe II angesetzten, und mit demselben Knöllcheninfus geimpften Topfes. Aufgang und Vegetationsverlauf waren normal, die Beerntung erfolgte am 7. August. Die Pflanzen der Reihen I und II waren im Stadium beginnenden Hülsenansatzes, die der zweiten Hälfte des Versuchs im Stadium beginnender Blüte.

Tabelle II enthält das Resultat dieses Versuches.

Tabelle II.

Reihe	Impfmittel	Ernte in gr.				Bemerkungen
		lufttr. Substanz	absolute Trocken-Substanz	Proz. N in der Trockens.	N	
I	ungeimpft	165,0 165,5	} 153,0	2,64	4,039	Unterschiede in der Knöllchenbildung nicht vorhanden.
II	geimpft mit einmal durch die Pflanze gegangenen Bakterien	178,0 172,0				
III	ungeimpft	57,0 73,0	} 58,0	3,13	1,815	
IV	geimpft mit zweimal durch die Pflanze gegangenen Bakterien	79,0 73,0				

Aus der Tabelle ist zunächst ersichtlich, daß die spontan im Boden vorhandenen Bakterien voll virulent waren; die Ernte von 4 gr Stickstoff bei 22 Pflanzen muß als sehr hoch bezeichnet werden. Die Impfung mit Bakterien, die aus demselben Boden einmal durch

die Pflanze gegangen waren, hat demgemäß nur einen geringen Mehrertrag an Trockensubstanz und Stickstoff ergeben, der innerhalb der Fehlergrenze liegt. Der zweite Teil des Versuches läßt leider keine Schlußfolgerung zu, weil der eine Topf der dritten Reihe eine geringere Pflanzenzahl und aus dem Grunde wohl auch geringere Trockensubstanz aufzuweisen hat. Wollte man die geringere Produktion nicht auf Kosten der fehlenden 3 Pflanzen setzen, so ergibt sich hier eine ganz beträchtlich höhere Stickstoffsammlung der vierten Reihe. Indessen halte ich diese Annahme für unzulässig, weil der Fall bei nur zwei Parallelgefäßen nicht entschieden werden kann.

Einen Anhalt, ob die Virulenz durch Passage durch die Pflanze eine Erhöhung erfährt, müßten eigentlich auch Versuche geben, wo gleichzeitig Impferde und Reinkulturen bezw. Knöllcheninfuse als

Tabelle III.

Versuche No.	Versuchspflanze	Impfmittel											
		I Impferde				II Reinkultur				III Knöllcheninfus			
		Ernte an lufttrock. Substanz.	absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	Ernte in gr N	Ernte an lufttrock. Substanz.	absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	Ernte in gr N	Ernte an lufttrock. Substanz.	absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	Ernte in gr N
Vers. I	Pferdebohne	42,0	38,0	2,77	1,053	66,0	62,5	2,93	1,831	73,0	67,5	2,98	2,012
		66,0	54,0	2,84	1,534	72,5				74,0			
		60,0											
Vers. II	Pferdebohne	68,0	64,2	2,05	1,316	62,0	60,0	2,36	1,416	62,0	58,1	2,54	1,476
		71,0				64,5				70,0	65,3	2,44	1,593
Vers. III	Gelbe Lupine	67,5	62,6	1,80	1,123					83,5	77,7	2,96	2,300
		71,0	65,7	2,26	1,485					73,0	68,5	2,88	1,973
		56,0	50,7	2,74	1,389								
Vers. IV	Gelbe Lupine	71,5	66,3	2,66	1,764					81,0	73,7	3,32	2,447
		81,0	70,9	3,21	2,276					82,5	76,5	3,08	2,356
		71,5	65,6	3,46	2,270								
Vers. V	Gelbe Lupine	35,0	31,0	4,07	1,262					45,8	40,1	4,21	1,688
		50,5	44,8	3,68	1,649					42,0	39,1	3,93	1,537
		51,5	45,2	3,96	1,790					55,8	49,0	3,80	1,862

Impfmittel in Benutzung kamen. Ich will hier kurz die Resultate von fünf Versuchen mitteilen (Tabelle III). Die entsprechenden Reihen je eines Versuches hatten natürlich vollkommen gleiche Vegetationsbedingungen.

Vergleichen wir hier die Ernteziffern in den verschiedenen Reihen, so ersieht man, daß bei den Pferdebohnen in Versuch I zweifellos Reinkultur sowie Knöllcheninfus der Impferde an Wirksamkeit überlegen sind. Bei Versuch II ist die bessere Wirkung der Reinkultur gegenüber der Impferde zweifelhaft, letztere hat sogar mehr Pflanzenmasse produziert, bleibt allerdings in der Stick-

stoffproduktion zurück¹⁾, während dagegen die Infusreihe auch hier in der Stickstoffaufnahme deutlich voraus ist. Bei den Lupinen ist bei Versuch III zweifelsfrei eine geringere Wirkung der Impferde gegenüber der Infusreihe zu verzeichnen, während bei den anderen Versuchen diese Erscheinung nur in einzelnen Gefäßen ausgesprochen vorhanden sind.

Aber diese bessere Wirkung der Reinkulturen und Infuse gegenüber der Impferde braucht nicht oder nicht allein durch die höhere Virulenz der betreffenden Bakterien verursacht zu sein, die Anzahl der zugeführten Bakterien kann hier ebensowohl von Einfluß sein. Indessen ist die Wahrscheinlichkeit für die letzte Annahme nicht sehr groß. Zwar waren einige Pflanzen in wenigen Töpfen knöllchenfrei; aber hier können sehr wohl Nebenwurzeln, die Knöllchen trugen, bei der Beerntung verloren gegangen sein, weil ein offenkundiges Hungern einzelner Pflanzen nach Stickstoff, wie es doch die ungeimpften, knöllchenfreien Pflanzen zeigten, nicht beobachtet worden ist. Im Durchschnitt konnte bei den mit Impferde infizierten Pflanzen gleiche Knöllchenzahl wie bei den anderen Reihen beobachtet werden, bei Versuch III war der Knöllchenbesatz sogar etwas reichlicher bei der Impferdereihe.

Außerdem zeigt ein Vergleich mit ähnlichen Versuchen, die Nobbe und seine Mitarbeiter²⁾ anstellten, daß die geringere Zahl der Bakterien zum mindestens nicht allein die Ursache der fraglichen geringeren Wirkung gewesen ist. Bei diesen Versuchen kam ebenfalls Impferde zur Verwendung. Jeder Topf erhielt dort den Aufguß von 7 gr Boden, und jede Pflanze demnach bei deren 5 von 1,4 gr Boden. Die geimpften Erbsen zeigten gute Entwicklung, wie aus den dort angeführten Ernteziffern hervorgeht, und brachten es zu einer größeren Stickstoffsammlung wie durch Düngung mit Nitrat- oder Ammoniakstickstoff. An den Wurzeln einer Erbsenpflanze wurden beispielsweise über 4000 Knöllchen gezählt.

Bei den hier angeführten Versuchen erhielt jeder Topf nun einen Aufguß von etwa 250 gr Boden und jede Pflanze von etwa 12, teilweise 18 gr Boden, so daß man wohl annehmen darf, daß genügend Bakterien zugeführt wurden.

Es könnte nun aber noch der Einwand erhoben werden, daß die in der Impferde zugeführten Bakterien überhaupt nicht oder nur zu einem geringen Teil der betreffenden Art angehört hätten, ein Verdacht, der um so begründeter ist, als die Impferde in einer so großen Menge verwendet wurde, wie es im allgemeinen nicht üblich und wohl überhaupt noch nicht geschehen ist. Dieser Einwand ist uuzutreffend. Bei den Pferdebohnen stammte die Impferde von demselben Boden, in dem auch die Pflanzen wuchsen, die zur Gewinnung der gleichzeitig angewendeten Reinkulturen und Knöllcheninfuse dienten. Daß in demselben eine starke Flora

1) Die in Reinkulturen gezüchteten Bakterien scheinen also doch virulenter gewesen zu sein wie die Impferdebakterien. Zur Erklärung der merkwürdigen Erscheinung, daß die weniger virulenten Bakterien bessere Förderung der Pflanzen bewirkt haben, kann vielleicht auf die Ausführungen in Teil c dieser Abhandlung verwiesen werden.

2) Landw. Versuchsstation. Bd. XXXIX. 1891. p. 330—333.

Bohnenbakterien vorhanden war, zeigt bei dem vorigen Versuch die sehr hohe Stickstoffaufnahme der Pferdebohnen mit 4 gr pro Gefäß. Bei den Lupinen stammte die Erde vom sog. ewigen Lupinenfeld, auf dem seit 12 Jahren nur gelbe Lupinen gebaut werden. Auch hier dürften demnach die Bedingungen für Reichtum des Bodens an Lupinenbakterien erfüllt sein.

Aus dem angeführten geht hervor, daß die Annahme große Berechtigung hat, daß Unterschiede in der Virulenz der Bakterien die Ursache der verschiedenen Wirkung gewesen sind.

b) Dauer der Einwirkung der Pflanze auf die Virulenz der Bakterien während der Vegetation.

Wenn nun das Stickstoffsammelungsvermögen der Bakterien während der Symbiose mit der Pflanze eine Steigerung erfahren kann, so drängt sich die Frage auf, wie diese Aenderung vor sich geht. Es gibt zwei Möglichkeiten: entweder geschieht diese Virulenz-erhöhung sofort nach dem Eindringen in die Pflanze sprunghaft oder doch in einem sehr kurzen Zeitraum, etwa während die Knöllchen zur Ausbildung kommen, oder die Einwirkung von seiten der Pflanze erstreckt sich über die ganze Vegetationszeit. Ob letzteres der Fall ist, darüber kann man Aufschluß erhalten, wenn man Bakterien desselben Virulenzgrades in Pflanzen eindringen läßt, und nun in verschiedenem Alter der Pflanzen die Bakterien ihrer Knöllchen auf ihr Stickstoffsammelungsvermögen hin prüft,

In dieser Richtung angestellte Versuche wurden nach folgendem Plan ausgeführt: Neben der ungeimpften Vergleichsreihe bestand jeder Versuch aus sechs Reihen, von denen die Hälfte mit Reinkulturen die andere Hälfte mit Knöllcheninfusen behandelt wurde. Zur Prüfung kamen demnach Bakterien aus Pflanzen, die sich in drei verschiedenen Altersstadien befanden, und zwar 1) aus blühenden Pflanzen, 2) aus solchen im Stadium der beginnenden Knospenbildung und 3) aus Keimpflanzen, die 2—3 Blätter entwickelt hatten und eben die ersten kleinen Knöllchen aufwiesen. Die zur Gewinnung der Bakterien gezogenen Pflanzen hatten natürlich völlig gleiche Vegetationsbedingungen, soweit sie nicht wegen ihres verschiedenen Alters zu verschiedenen Zeiten wuchsen; sie wurden in einen gut gemischten Boden gepflanzt, der virulente Bakterien enthielt.

Versuch I.

Die Pferdebohnen werden am 24. Juni in kleine Tongefäße gepflanzt und beim Aufgang geimpft. Die zur Impfung benutzten Reinkulturen waren am 17. Juni auf den schon erwähnten Nährboden (Pflanzenextraktgelatine) isoliert, das Wachstum derselben war gleichmäßig gut. Unterschiede in der Entwicklung der Kulturen, die von verschieden alten Pflanzen entstammten, wie Beijerinck beobachtet hat, waren nicht zu konstatieren. Die Knöllcheninfuse entstammten von Pflanzen der gleichen Altersunterschiede. Hinsichtlich des Knöllchenbesatzes an den zur Gewinnung der Impfmittel benutzten Pflanzen war mit zunehmendem Alter der Pflanze eine Zunahme der Knöllchen an Größe und Zahl zu bemerken. Die Ernte der Pferdebohnenkulturen erfolgte am 25. August.

Versuch II.

Die Lupinen wurden am 12. Juli in große Tongefäße gepflanzt. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei Versuch I. Die Reinkulturen waren am 9. Juli angelegt, der Nährboden hatte dieselbe Zusammensetzung wie die bei den Pferdebohnenbakterien benutzte, nur daß hier Lupinenpflanzen statt Pferdebohnen in Anwendung kamen. Die Kulturen zeigten rasches Wachstum, Unterschiede in der Schnelligkeit des Wachstums konnten auch hier nicht beobachtet werden. Bezüglich der Knöllchenbildung an den verschieden alten Pflanzen war hier nicht so ausgesprochen eine Zunahme an Zahl als vielmehr an Größe der Knöllchen mit zunehmendem Alter der Pflanzen zu konstatieren. Die Knöllcheninfuse wurden in der gleichen Weise von verschieden alten Pflanzen gewonnen.

Im Verlauf der Vegetation blieb bei zwei von den mit Reinkulturen geimpften Reihen eine Stickstoffsammlung aus, nur die Pflanzen der mittleren Reihe III ergrüntem vom 15. September ab fast gleichzeitig in allen 3 Gefäßen. Die Ernte erfolgte am 27. Oktober. Tabelle IV enthält das Ergebnis dieser Versuche (siehe p. 439, 440).

Hier ist nun zunächst noch folgendes vor auszuschicken: Es wurde, wie schon Eingangs erwähnt ist, etwa jede Woche eine Umstellung der Gefäße vorgenommen, um Standortsvielfalt auszugleichen, die bei drei eng zusammenstehenden Gefäßen sonst sehr in die Erscheinung treten würden. Es hat sich nun herausgestellt, wie aus den Ernteziffern hervorgeht, daß ein wöchentlicher Wechsel in der Stellung nicht genügt, um diesen Einfluß völlig zu kompensieren, in jeder Reihe befindet sich vielmehr ein Gefäß, welches sich durch höhere Produktion an Trockensubstanz und demgemäß auch Stickstoff auszeichnet. Es muß angenommen werden, daß diese Gefäße zu einer besonders kritischen Periode, an denen der vorige Sommer mit seinen großen Temperaturschwankungen reich war, der Erwärmung durch direkte Bestrahlung, gegen die Bakterien wie Pflanzen besonders empfindlich zu sein scheinen, durch ihre bevorzugte Mittelstellung zwischen den anderen beiden Randgefäßen entrückt waren. Der Beobachtung zugänglich wurde diese Erscheinung nur in einzelnen Fällen, wo nach einer solchen Wärmeperiode das Aussetzen der Stickstoffsammlung in den am Rande stehenden Gefäßen durch Vergilben der unteren Blätter bemerkbar wurde. Nach einiger Zeit allerdings ergrüntem dann auch diese wieder kräftig. Vergleichen wir nun die Werte der einzelnen Parallelgefäße, so ergibt sich ja allerdings, daß die verschiedene Produktion an Trockensubstanz teilweise wieder ausgeglichen wird durch in umgekehrter Weise schwankenden Stickstoffgehalt, sodaß wir Stickstoffernnten erhalten, die im Höchstfalle um 0,137 g Stickstoff vom Mittel der bezüglichen Parallelgefäße abweichen. Der Lupinenversuch hat derartige Störungen aufzuweisen, daß hier die betreffenden Gefäße ohne weiteres ausgeschaltet werden müssen. Bezüglich des Pferdebohnenversuches jedoch möchte ich hier auf

Tabelle IV.
Versuch I. Versuchspflanze: Pferdebohne.

Versuchsreihe	Impfmittel	Ernte in g				Bemerkungen zur Knöllchenbildung
		luftt. Substanz	Absolute Trocken- substanz	% N in der Trocken- substanz	N	
I.	ungeimpft	33,2 76,5	30,6 69,8	1,31 1,86	0,401 1,298	In der ungeimpften Reihe ist ein Topf stark an den Nebenwurzeln der Pflanze infiziert, in dem anderen finden sich an einigen Pflanzen vereinzelt Knöllchen an der Nebenwurzel.
II.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen im Stadium der Blüte	88,5 97,0 112,5	85,7 104,3	2,61 2,35	2,237 2,451	
III.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen im Stadium beginnender Knospenbildung	95,5 106,5 105,5	88,2 99,1	2,62 2,49	2,311 2,468	In den geimpften Reihen zeigen die Pflanzen von Topf 1, Reihe II Tr.-S. = 88,5 g reichlicherer Knöllchenbesatz wie der Durchschnitt, die Pflanzen von Topf 3, Reihe IV, Tr.-S. = 109,5 g tragen ausnahmsweise große Knöllchenzahl, dieselbe wie bei den anderen.
IV.	Reinkultur aus Knöllchen von Keimpflanzen	92,5 95,5 109,5	88,7 103,3	2,56 2,30	2,271 2,376	
V.	Knöllcheninfus von Pflanzen im Stadium der Blüte	85,4 90,2 100,0	79,5 92,1	2,72 2,39	2,162 2,201	Die Pflanzen aus Topf 1, Reihe V, haben gleich starken Knöllchenbesatz, aber kleinere Knöllchen wie der Durchschnitt.
VI.	Knöllcheninfus von Pflanzen im Stadium beginnender Knospenbildung	91,0 97,0 111,0	87,0 102,8	2,57 2,44	2,236 2,508	
VII.	Knöllcheninfus von Keimpflanzen	92,0 91,0 107,0	85,1 96,7	2,60 2,48	2,213 2,398	

Ausführungen von Pfeiffer¹⁾ hinweisen, der Abweichungen vom Mittel in den Stickstoffernten im Höchsthalle von 0,18 g zu verzeichnen hatte. Pfeiffer weist auf ähnliche Versuche von Wagner, Liebscher u. a. hin, die mit denselben Differenzen zu rechnen hatten, und kommt zu dem Schluß, daß derartige Schwankungen wohl unvermeidlich sein dürften. Trotzdem möchte ich vorliegenden Versuchsergebnissen nur bedingte Beweiskraft zusprechen, da in diesem Fall von gleichen Vegetationsbedingungen wohl kaum die Rede sein kann.

Will man nun, bei den Pferdebohnen zunächst, die hohen Werte ausschalten, so ergeben die übrig bleibenden Töpfe in allen sechs geimpften Reihen fast gleiche Pflanzenproduktion und demgemäß Stickstoffernten, die im Höchsthalle nur um 0,111 g differieren,

1) Pfeiffer, Th. und Franke, E., Beitrag zur Frage der Verwertung elementaren Stickstoffs durch den Senf. (Landw. Versuchstationen. Bd. XLVI. p. 136.)

Versuch II. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

Versuchsreihe	Impfmittel	Ernte in g				Bemerkungen zur Knöllchenbildung
		lufttr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N	
I. ungeimpft		17,8	15,8	1,34	0,212	Knöllchenfrei
		7,2	6,6	1,43	0,094	
		7,0	6,5	1,43	0,093	
II. Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen im Stadium der Blüte		12,3	11,4	1,57	0,179	Knöllchenfrei
		16,8	15,4	1,46	0,225	
		11,0	9,9	1,58	0,156	
III. Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen im Stadium beginnender Knospenbildung		37,2	33,8	3,33	1,126	Alle Pflanzen tragen mäßig reichlich bis erbsengroße Knöllchen vorwiegend an den Nebenwurzeln
		26,8	23,9	3,69	0,882	
		37,0	33,0	3,93	1,297	
IV. Reinkultur aus Knöllchen von Keimpflanzen		12,0	11,3	1,33	0,150	Die Pflanzen eines Topfes knöllchenfrei. In den anderen Töpfen bei einzelnen Pflanzen erbsengroße Knöllchen an den Nebenwurzeln
		14,0	12,7	1,93	0,245	
		18,0	16,9	1,63	0,275	
V. Knöllcheninfus von Pflanzen im Stadium der Blüte		43,7	40,9	3,92	1,603	Große, gut entwickelte Knöllchen an Haupt- und Nebenwurzeln, an letzteren reichlicher
		73,8	68,7	3,76	2,583	
VI. Knöllcheninfus von Pflanzen im Stadium beginnender Knospenbildung		60,5	56,6	3,49	1,975	Wie in Reihe V. Zahl und Größe der Knöllchen dieselbe
		87,2	82,3	3,16	2,601	
VII. Knöllcheninfus von Keimpflanzen		52,5	48,3	3,81	1,840	Wie in den Reihen V und VI
		87,0	81,9	3,18	2,604	

betrachtet man die Reihen 2—4 und ebenso 5—7 getrennt, wie es erforderlich ist, so ist die größte Differenz bei den ersten 0,076 g und bei den letzten 0,074 g. Dasselbe ist vice versa der Fall, wenn man die ausgeschalteten hohen Werte für sich betrachtet, auch hier bewegen sich die Stickstofferten mit einer etwas größeren Abweichung auf gleicher Höhe. Bei den Lupinen sind neben den schon erwähnten drei Gefäßen die Reihen II, III und IV ganz auszuschalten, weil keine Stickstoffsammlung eintrat. Daß bei der dritten Reihe dieselbe doch noch einsetzte, ist lediglich Zufall, indessen dürfte hier von spontaner Infektion keine Rede sein, da die ungeimpfte Reihe knöllchenfrei blieb, und die Pflanzen in allen Töpfen sämtlich Knöllchen aufzuweisen hatten. Es bleibt dann nur je ein Topf der Reihen V, VI und VII, diese zeigen dann aller-

dings in Uebereinstimmung mit dem ersten Versuch fast absolut gleiche Stickstoffaufnahme. Die Ergebnisse deuten demnach darauf hin, daß eine während der ganzen Dauer der Vegetation fortbestehende Einwirkung der Pflanze auf die Virulenz der Bakterien nicht statthat, indessen muß diese Frage aus den schon erwähnten und noch folgenden Gründen als noch offen betrachtet werden.

Ich möchte nämlich nicht versäumen, hier auf einen schon einmal erwähnten Umstand hinzuweisen, der für die Entscheidung dieser Frage von großer Wichtigkeit ist. Der Stickstoffgewinn in den geimpften Pflanzenkulturen, der durch die Virulenzzunahme der Bakterien während der Symbiose mit der Pflanze bewirkt wird, kann nur gleich einem Wert sein, der innerhalb der Fehlergrenze beim Vegetationsversuch liegt. Dieser Umstand macht eine Entscheidung der vorliegenden Frage schon schwierig. Aber auch für den Fall, daß die Virulenzzunahme und deshalb der N-Gewinn einen größeren Wert annimmt, wird ebenfalls, wenn die Einwirkung der Pflanze auf die Bakterien sich nicht nur auf den Anfang sondern auf die ganze Vegetation, und hier vielleicht in vermindertem Maße erstreckt, der Fall eintreten können, daß der Vegetationsversuch für die Differenzierung dieser kleinen Stickstoffmengen, wie sie ein geringer Virulenzunterschied bedingt, versagt. Um diese Uebelstände zu vermeiden, gibt es einen Weg, der wohl zum Ziele führen kann, indem man nämlich von nur schwach virulenten Bakterien ausgeht. Denn dann muß natürlich die Virulenzsteigerung ihren größtmöglichen Wert annehmen, und die Differenzen der Stickstofferten werden durch den Vegetationsversuch bei Benutzung einer großen Anzahl von Gefäßen möglicherweise einwandfrei meßbar.

c) Einfluss des Ernährungszustandes der Pflanze auf die Virulenz der Bakterien.

Es ist schon des öfteren beobachtet worden, daß nicht vollvirulente Bakterien erst dann in die Pflanze einzudringen vermögen, wenn diese in ihrer Ernährung ungünstiger gestellt wird, wie es z. B. im stickstoffarmen Boden durch Mangel an diesem Nährstoff eintritt. Virulente Bakterien können dagegen auch in bestem Ernährungszustand befindliche Pflanzen infizieren¹⁾. Es ist hier demnach unverkennbar, daß die durch verschiedene Ernährungsbedingungen veränderliche Abwehrenergie der Pflanze einer großen, wechselnden Einwirkung auf die Bakterien fähig ist, ebenfalls eine Erscheinung, die von dem Gesetz der Gleichgewichtsbedingung tangiert wird.

1) Es sind dies Erscheinungen, die den Verhältnissen bei Infektionskrankheiten vollkommen analog sind, auch dort ist der durch irgend welche Ursachen geschwächte Organismus viel eher für eine Infektion empfänglich, als unter normalen Verhältnissen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Gips als ammoniakbindende Substanz bei der Verrottung des Stallmistes.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der kaiserlich russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von S. A. Sewerin.

(Schluß.)

Die Ergebnisse der folgenden zwei Versuche sind in der Tabelle III verzeichnet. Hier war gleichfalls eine Mistportion mit Gips, die andere ohne Gips, aber die Mistportionen wurden im Autoklaven bei 2 Atmosphären durch $\frac{1}{2}$ Stunde sterilisiert, wonach beide Portionen mit Reinkulturen derselben 4 Mikroben, wie im vorigen Versuche, geimpft wurden; außerdem wurde beiden Portionen noch als Impfmateriel je 1,0 ccm eines wässerigen Auszuges aus derselben Stallmismischung, welche wir zur Zusammensetzung der Versuchsportionen vor ihrer Sterilisation benutzt hatten, zugesetzt. Diese Sterilisation wurde deswegen ausgeführt, um auf dem Wege eines Vergleiches mit dem vorausgegangenen Versuche den Versuch zu machen, wenigstens einigermaßen ihren Einfluß auf den nachfolgenden Verrottungsprozeß des Stallmistes ins Klare zu bringen. Der Versuch begann am 11. April 1898. Das Resultat dieses Versuches in Zahlen ausgedrückt, ist folgendes:

III.

Datum der Gewichtsbestimmung	5. Versuch mit Gips	6. Versuch ohne Gips
	CO ₂ ausgeschieden	
	g	g
6. April	2,3838	1,4348
11. "	3,9180	2,3820
16. "	2,6148	2,0526
21. "	2,7228	2,1258
26. "	2,4850	1,9904
1. Mai	3,7026	2,7646
Summa in 30 Tagen	17,8270	12,9502
6. Mai	4,3490	1,4308
11. "	3,0256	1,8506
16. "	3,7838	1,3096
21. "	3,2848	1,2340
26. "	2,6258	1,0552
Summa in 25 Tagen	17,0690	6,8802
" " 55 Versuchstagen	31,8960	1,98304
Während des ganzen Versuches NH ₃ ausgeschieden	0,00275	0,0105

Soweit man nach der Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure urteilen kann, ging die Verrottung des Stallmistes mit Gips sehr

energisch vor sich, und dabei war die Intensität der Oxydation eine gleiche wie im ersten, so auch im zweiten Monat; in dem Miste ohne Gips war die Verrottungsenergie bereits viel schwächer, wobei sie im zweiten Monat, im Vergleich zum ersten, um die Hälfte abnahm. Ammoniak wurde in dem Versuche mit Gips sehr wenig ausgeschieden, im ganzen 2,7 mg, während bei dem ohne Gips bedeutend mehr — 10,5 mg ausgeschieden wurde. Was das Äußere des Mistes anbelangt, so war in dem Versuche mit Gips der Mist merkbar eingetrocknet, verhältnismäßig wenig dunkler geworden, verbreitete gar keinen ammoniakalischen Geruch, dem-entgegen war bei dem Versuche ohne Gips der Mist stark dunkel geworden, feucht und hatte einen ausgesprochen ammoniakalischen Geruch. Ein wässriger Auszug aus dem Miste mit Gips war schwach gefärbt, das Filtrat gleichfalls hell, mit leichter Trübung, von neutraler Reaktion; ein wässriger Auszug aus dem Miste ohne Gips war dunkel, das Filtrat dunkel, vollständig transparent, von alkalischer Reaktion. Nitratreaktion zeigte weder der eine noch der andere Auszug; mit dem Nesslerischen Reaktiv gaben beide Auszüge einen reichlichen ziegelroten Niederschlag.

Leider muß man zugestehen, daß dieser Versuch mißlungen ist, und wiederum dank dem Dazwischenkommen der Schimmelbildung. Bei dem Versuche mit Gips war die ganze Mistoberfläche mit einem Schimmelrasen bedeckt, während bei dem ohne Gips gar kein Schimmel vorhanden war. Wann der Schimmel aufgetreten ist, können wir nicht sagen, denn wir bemerkten ihn erst nach Schluß der Versuche. Es ist leicht verständlich, daß infolge dieses Umstandes die Bedingungen, unter welchen die Versuche verliefen, ungleiche wurden, und daß deswegen ein Vergleich zwischen ihnen unmöglich ist. Würde man die beiden letzten Versuche miteinander vergleichen, so müßte man konstatieren, daß der Gipszusatz den Oxydationsprozeß um 80 Proz. erhöht hat, was unwahrscheinlich ist; was davon dem Gips zukommt, und was vielleicht auf Rechnung der Schimmelbildung zu stellen ist, ist voneinander zu trennen unmöglich.

Ebenso ist es bezüglich des Ammoniaks schwer, zu entscheiden, welchem Versuch die sehr schwache Ammoniakausscheidung bei dem Versuche mit Gips zu verdanken ist — dem Gips oder dem Einflusse der Schimmelbildung; beides kann, wie wir aus den Versuchen der Tabelle I und II sahen, der Fall sein. Da bei dem besprochenen Versuche der Mist Ammoniak enthielt, so muß man annehmen, daß letzteres mehr oder weniger auch vom Gipse gebunden wurde. Ebenso schwer fällt es auch, die beiden letzten Versuche mit den vorangegangenen behufs einer Klärung des Einflusses der Sterilisation zu vergleichen. Den 5. Versuch mit dem 3. zu vergleichen, ist in Anbetracht der augenscheinlichen Ungleichheit der durch die Schimmelbildung geschaffenen Bedingungen unmöglich. Vergleicht man nun den 5. Versuch mit dem 1., was zweckmäßiger ist, weil diese beiden Mistportionen mit üppigem Schimmelrasen bedeckt waren, so resultiert daraus, daß der sterilisierte Mist einer energischeren Oxydation ausgesetzt ist. Vergleicht man nun

die Versuche ohne Gips, und zwar die Versuche 6 und 4, als mehr gleichartige, so ergibt sich hier das Umgekehrte: Der sterilisierte Mist war einem schwächeren Oxydationsprozeß ausgesetzt. Es unterliegt keinem Zweifel, daß bei dieser Anordnung der Versuche ein derartiger Vergleich verschiedener Versuchspaare keine zuverlässigen Resultate ergeben kann; die wesentlichste Differenz bei den zu vergleichenden Versuchen ist die Ungleichheit ihrer Bakterienflora.

Wenden wir uns nun den letzten beiden Versuchen zu. Bei diesen hatten wir es nur mit Reinkulturen derjenigen 4 Mikrobien zu tun, welche an den beiden vorangegangenen Versuchen beteiligt waren. Deshalb wurden beide Versuchsportionen des Mistes mit und ohne Gips anfangs sterilisiert, wie immer bei 2 Atmosphären durch $\frac{1}{2}$ Stunde, und danach unter allen Kautelen vor Verunreinigung mit andersartigen Bakterien Impfungen mit frischen Bouillonkulturen, je einem $\frac{1}{2}$ ccm von jeder der 4 oben genannten Mikrobien, ausgeführt. Der Versuch wurde am 26. Januar 1898 begonnen; das Resultat des Versuchs ist folgendes:

IV.

Datum der Gewichtsbestimmung	7. Versuch mit Gips	8. Versuch ohne Gips
	CO ₂ ausgeschieden	
	g	g
31. Januar	1,8438	1,5064
5. Februar	2,0838	2,3902
10. "	2,2638	2,1434
15. "	1,1446	1,1626
20. "	0,8766	0,8122
25. "	0,6410	0,4098
Summa in 30 Tagen	8,8542	8,4816
2. März	0,4938	0,4534
7. "	0,3532	0,2738
12. "	0,3572	0,2492
17. "	0,2720	0,2787
22. "	0,2438	0,2486
25. "	0,1950	0,1492
Summa in 30 Tagen	1,9150	1,6526
1. April	0,1842	0,1306
6. "	0,1004	0,0830
11. "	0,1180	0,0746
15. "	0,1086	0,0722
Summa in 20 Tagen	0,5122	0,3604
" " 80 Versuchstagen	11,2804	10,4976
Während des ganzen Versuchs NH ₃ ausgeschieden	0,0152	0,0321

Vergleicht man diese Versuche mit den vorigen, so läßt es sich unschwer einsehen, daß hier der Oxydationsprozeß bedeutend schwächer vor sich ging; bei den vorangegangenen Versuchen mit natürlicher Zusammensetzung der Bakterienflora, wurde CO₂ in

ein und derselben Zeit 3—4mal soviel ausgeschieden als bei den Versuchen mit den Reinkulturen allein. Natürlich lag das nicht an der Sterilisation des Mistes, worüber die Versuche der Tabelle III, bei denen der Mist ebenso sterilisiert war, wie bei dem Versuche mit Reinkulturen, und wo dennoch das ausgeschiedene Kohlensäurequantum dasjenige bei den Versuchen der Tabelle IV bedeutend übertraf, ein deutliches Zeugnis ablegen. Daß der Mist mit den Reinkulturen weniger verrottete — das ist leicht verständlich; es unterliegt keinem Zweifel, daß bei allen vorangegangenen Versuchen die Bakterienflora des Stallmistes reicher war und mehr verschiedene Arten aufwies; dort gab es entschieden Vertreter verschiedener Zersetzungsprozesse organischer Körper, sowohl der aëroben als auch der anaëroben Bakteriengruppe, während bei den zwei letzten Versuchen die ganze Bakterienflora auf bloß 4 Arten der aëroben Gruppe beschränkt war. Es ist leicht verständlich, daß bei einem derartigen Unterschiede der Bakterienflora auch ein verschiedener Oxydationseffekt der organischen Substanz des Mistes sich ergeben mußte. Unter anderem äußert sich dieser Unterschied auch in der Konsequenz des Verlaufes des Oxydationsprozesses. So besteht, wenn auch bei allen angeführten Versuchen das Maximum der CO_2 -Ausscheidung auf den ersten Monat fällt, später zwischen den Versuchen der Tabelle IV und allen übrigen ein recht bemerkbarer Unterschied; bei den Versuchen mit natürlicher Bakterienflora sinkt wohl die CO_2 -Ausscheidung im zweiten Monat, aber relativ wenig, bisweilen bleibt sie sogar unverändert, im dritten Monat tritt eine weitere Herabsetzung der Kohlensäuremenge ein, aber nichtsdestoweniger wird selbst dann eine solche CO_2 -Menge ausgeschieden, daß von einem Aufhören der Lebenstätigkeit dieser Bakterienflora noch lange nicht die Rede sein kann. Bei dem dritten Versuche z. B. blieb der Oxydationsprozeß sogar auf derselben Höhe wie im zweiten Monat, während bei den Versuchen mit Reinkulturen die CO_2 -Ausscheidung im zweiten Monat schroff sinkt und zu Ende des dritten Monats ihrer so wenig ausgeschieden wurde, daß das Bakterienleben im Miste augenscheinlich fast ganz erloschen war. Vergleicht man nun die Aufeinanderfolge der CO_2 -Ausscheidung in 5-tägigen Zeitintervallen, so erreicht bei den Versuchen mit Reinkulturen die CO_2 -Ausscheidung in den zweiten oder dritten 5 Tagen ihr Maximum und beginnt danach sehr konsequent zu sinken, während des ganzen Versuches, ohne jegliche Sprünge nach oben (ein derartiger Charakter der CO_2 -Ausscheidung wurde von uns stets auch bei allen unseren früheren Versuchen mit Reinkulturen konstatiert, siehe unsere Arbeiten „Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle“). Dementgegen fällt bei den übrigen Versuchen das Maximum der CO_2 -Ausscheidung nicht immer ganz auf den Anfang der Versuche, so z. B. stellte sich das Maximum der Ausscheidung bei dem 1., 2. und 5. Versuche erst nach 40, 25 und 35 Tagen ein und die Konsequenz der Abnahme ist nicht so streng und macht nicht selten einer Steigerung der CO_2 -Ausscheidung Platz.

Was einen Vergleich der Versuche hinsichtlich der NH_3 -Aus-

scheidung anbelangt, so kann dieser Vergleich, in Anbetracht der verschiedenen Veränderungen, welchen das in dem Misthaufen gebildete Ammoniak ausgesetzt ist, und welche dabei nicht in Rechnung zu bringen sind, zu keinen mehr oder weniger bestimmten Schlußfolgerungen führen. Nimmt man z. B. den 4. Versuch, so sieht man, daß die natürliche Bakterienflora (+ 4 Reinkulturen) aus dem Miste mehr als 2mal soviel (73 mg) NH_3 bilden und ausscheiden kann, als die Reinkulturen (32 mg) z. B. im 8. Versuch, während bei dem 6. Versuche (mit sterilisiertem Mist, wie auch im 8. Versuch), trotzdem bei diesem außer der natürlichen Bakterienflora noch dieselben 4 Mikroorganismen, wie in dem 8. Versuche, beteiligt waren, nichtsdestoweniger aus dem Miste 3mal weniger (10 mg) NH_3 , als im 8. Versuche zur Ausscheidung gelangte. Leichter läßt sich die Konsequenz des Ganges der NH_3 -Ausscheidung aus dem Miste charakterisieren; diese Konsequenz kann man übrigens bloß an der Hand weniger Versuche mit mehr oder weniger beträchtlicher NH_3 -Ausscheidung verfolgen, wobei als Kriterium der Zeitpunkt der Entfärbung des ersten von den 3 U-förmigen Röhrchen mit titrierter Schwefelsäure jedes Apparates zu benutzen ist. Folgendermaßen verlief z. B. die Ammoniaksättigung des ersten U-förmigen Röhrchens bei dem 4. Versuche ohne Gips, mit nicht sterilisiertem und mit 4 Reinkulturen geimpften Stallmiste. Zum ersten Male entfärbte sich das Röhrchen (mit jedesmaligem Gehalt von 6 ccm $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure) 41 Tage nach Beginn des Versuches; nach Versetzung des ersten Röhrchens auf die Stelle des dritten und Zusatz von 2 ccm titrierter Säure zu dem entfärbten Röhrchen, trat die zweite Entfärbung bereits nach 23 Tagen ein. Am 9. November, d. h. 71 Tage nach Beginn des Versuches, wurden alle 3 Röhrchen titriert; es erwies sich, daß im ganzen während dieser Zeit 30 mg NH_3 zur Ausscheidung gelangten. Darauf wurden die Röhrchen von neuem mit frischer H_2SO_4 gefüllt. Am 18. November, d. h. wiederum nach 9 Tagen, entfärbt sich das erste U-förmige Röhrchen wiederum, die letzte Entfärbung trat am 5. Dezember, d. h. nach 8 Tagen ein; eine allgemeine Titration ergab, daß vom 9. November bis zum 5. Dezember, d. h. in 26 Tagen, 46 mg ausgeschieden wurden. Bei dem 8. Versuche mit Reinkulturen trat die Entfärbung des ersten U-förmigen Röhrchens zum ersten Male 45 Tage nach Beginn des Versuches ein; nach Umstellung der Röhrchen trat die zweite Entfärbung des ersten Röhrchens bereits nach 15 Tagen ein; zu dieser Zeit wurde eine allgemeine Titration aller Röhrchen vorgenommen; nach Füllung letzterer mit frischer titrierter Säure trat die folgende und letzte Entfärbung des ersten Röhrchens nach 16 Tagen ein. Bei dem 6. und 7. Versuche, bei denen die Entfärbung bloß einmal während des ganzen Verlaufes der Versuche eintrat, geschah es bei dem 6. Versuche 50 Tage und bei dem 7. 60 Tage nach Beginn des Versuches.

Wenn somit in den Versuchsportionen NH_3 gebildet und dieses NH_3 nicht gebunden wird, so geht während der ersten Hälfte der

Versuche die NH_3 -Ausscheidung sehr langsam vor sich, aber während der zweiten Hälfte in beträchtlich beschleunigtem Tempo. Diese Erscheinung ist, wie aus den angeführten Daten zu ersehen ist, eine gemeinsame sowohl für den sterilisierten Mist, welcher bloß eine geringe Bakterienmenge in Reinkulturen beherbergte, als auch für den nicht sterilisierten mit natürlicher Zusammensetzung der Bakterienflora. Es ist schwer, anzunehmen, daß ein derartiger Gang der NH_3 -Ausscheidung in direkter Abhängigkeit von dem Gange der ammoniakalischen Harn gärung im Miste wäre. Wenn das der Fall wäre, so müßte bei der Leichtigkeit und Schnelligkeit, mit welcher der Harn ammoniakalischer Gärung verfällt, eine reichliche NH_3 -Ausscheidung aus dem Miste während der ersten Hälfte der Versuche und nicht während der zweiten, wie bei unseren Versuchen, stattfinden. Wir sind eher geneigt, hier eine Bestätigung der Déherainschen Versuche, gemäß welcher die NH_3 -Ausscheidung aus Ammonkarbonat in enger Abhängigkeit von dem Sättigungsgrade mit CO_2 , der das Ammonkarbonat umgebenden Atmosphäre sich befindet, anzuerkennen. Bei starker Sättigung der Atmosphäre mit CO_2 entbindet Ammonkarbonat kein Ammoniak, umgekehrt, je schwächer diese Sättigung ist, desto mehr NH_3 kommt zur Ausscheidung. Dasselbe sieht man auch bei unseren Versuchen während der ersten Hälfte ihres Verlaufes, wo eine reichliche CO_2 -Ausscheidung stattfindet, ist die NH_3 -Ausscheidung aus dem Miste eine schwache, in der zweiten Hälfte aber, wo die Energie der CO_2 -Bildung bedeutend sinkt, steigt die NH_3 -Ausscheidung beträchtlich. Uebrigens läßt sich hier auch die biologische Seite nicht ganz ignorieren, d. h. die Individualität der ammoniakbildenden Mikroorganismen.

Wenn wir nun das äußere Aussehen der Versuchsportionen des Stallmistes nach Schluß der Versuche miteinander vergleichen, so können wir folgende Tatsache konstatieren: Sämtliche Mistportionen ohne Gips sind stets etwas feuchter und sehen dunkler aus, als die entsprechenden Mistportionen mit Gips; mit anderen Worten, die Mistportionen ohne Gips machen den Eindruck von mehr verrotteten, als die mit Gips, doch steht dieses in Widerspruch mit dem zuverlässigeren Indikator der Verrottungsenergie des Mistes, und zwar mit der Menge der aus dem Miste ausgeschiedenen Kohlensäure. Diese Mengen beweisen das Gegenteil, denn bei allen Versuchen mit Gips, mit Ausnahme des ersten, wurde mehr CO_2 ausgeschieden als bei denjenigen ohne Gips. Bei den letzten Versuchen, dem 7. und 8., war der Mist ohne Gips ebenfalls dunkler und feuchter, als der mit Gips, Ammoniakgeruch hatten beide Portionen, aber bei dem Miste ohne Gips war der Geruch merkbar stärker, und dabei zeigte, so sonderbar es auch erscheinen mag, Lackmuspapier im Miste mit Gips neutrale Reaktion, in dem ohne Gips schwach alkalische; mit dem Nesslerischen Reaktiv gaben beide Portionen einen reichlichen ziegelroten Niederschlag, Nitrate enthielt weder die eine noch die andere Portion. Der oben besprochene Unterschied in dem Aussehen des Mistes ohne und mit Gips steht entschieden mit der NH_3 -Ausscheidung aus dem

Miste in Verbindung. Letzteres ist besonders deutlich an den Versuchen der Tabellen II und III zu ersehen, wo bei den Versuchen ohne Gips NH_3 ausgeschieden wurde, bei denen mit Gips aber nicht, oder wenn ja, wie im 5. Versuche, so in minimalem Maße. Bei den letzten Versuchen der Tabelle IV wurde NH_3 zwar bei beiden, bei dem Versuche mit und ohne Gips ausgeschieden, doch ist eine stärkere Veränderung des Aussehens des Mistes bei dem Versuche ohne Gips, wo eine stärkere NH_3 -Ausscheidung verzeichnet wurde, eingetreten. Vermerkt sei noch, daß die Versuche ohne Gips durch merkbare Veränderung des Aussehens des Mistes stets durch alkalische Reaktion charakterisiert sind, während die Versuchsportionen mit Gips neutrale Reaktion aufweisen. Was die Versuche der Tabelle I anbetrifft, bei denen NH_3 gar nicht ausgeschieden wurde, so konstatierten wir zwar einen geringen Unterschied in dem Aussehen des Mistes mit und ohne Gips in der Hinsicht, daß der Mist ohne Gips, wie auch bei den übrigen Versuchen, mehr verrottet schien, doch war dieser Unterschied viel schwächer, als bei den anderen Versuchen. Andererseits werden wir im Gegenteil bei einem Vergleich des Versuches ohne Gips der Tabelle I mit anderen gleichartigen Versuchen einen auffallenden Unterschied im Sinne einer bedeutend schwächeren Veränderung des Aussehens des Mistes bei dem Versuche ohne Gips der Tabelle I, als bei den übrigen Versuchen konstatieren, trotzdem bei den ersteren bedeutend mehr CO_2 ausgeschieden wurde, als bei den anderen Versuchen. Somit trifft auch bei diesem Vergleich die starke Veränderung des Aussehens des Mistes mit Ausscheidung von NH_3 zusammen, fehlt aber letztere, wie z. B. bei den Versuchen der Tabelle I, so ändert sich das Aussehen des Mistes wenig, und diese Veränderung steht in direktem Verhältnis zu dem Oxydationsprozesse, d. h. je mehr CO_2 ausgeschieden wird, desto mehr verändert sich auch das Aussehen des Mistes, doch, wir wiederholen es, diese Veränderung ist keine starke. Eine stärkere äußere Veränderung des Mistes steht entschieden nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit dem ammoniakalischen Gärungsprozesse im Miste; dieser Prozeß ging zweifellos in allen unseren Versuchsportionen vor sich, dennoch war die äußere Veränderung des Mistes nicht überall die gleiche. Zu einer merklichen äußeren Veränderung des Mistes in den ersten Stadien seiner Verrottung ist allen Anzeichen nach die Anwesenheit von freiem NH_3 in der Mistmasse erforderlich. Dieser, wahrscheinlich in Verbindungen mit den organischen Körpern des Mistes u. a., verleiht letzterem die dunkle Farbe, wenn aber das bei der Gärung sich bildende NH_3 sofort durch verschiedene biologische Prozesse gebunden wird oder, wie bei unseren Versuchen, teilweise durch den Gips, so gehen dann keine wesentlichen äußeren Veränderungen des Mistes vor sich.

Es bleiben uns nun noch einige Bemerkungen bezüglich des Vergleiches der Versuche der Tabelle IV miteinander übrig. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, hat der Mist mit Gips auch hier mehr CO_2 ausgeschieden, als der ohne Gips, obgleich dieses Plus

relativ gering ist — ca. 10 Proz. Was NH_3 anbelangt, so wurde es bei beiden Versuchen, aber bei dem ohne Gips 2mal soviel ausgeschieden. Somit hat der Versuch mit Reinkulturen erwiesen, daß der Gips den Verrottungsprozeß des Mistes verstärkt und dabei einen gewissen Teil des NH_3 bindet.

Das ist alles Material, welches uns bezüglich der erörterten Frage zur Verfügung steht. Aus diesen Daten geht vor allem hervor, wie schwer es ist, auf Grund von Versuchen, bei denen die Bakterienflora der Mistmassen unbekannt bleibt, irgend welche allgemeine Schlüsse abzuleiten. Es hätte zwar den Anschein, daß jedes Paar unserer Versuche ein vergleichbares Material liefern könnte, in Wirklichkeit aber ist dieses, wie z. B. die Versuche der Tabelle III beweisen, nicht der Fall. Destoweniger lassen sich natürlich Versuche verschiedener Tabellen, bei denen die Mistportionen ihrer Zusammensetzung nach sehr verschieden sein können, miteinander vergleichen. Zum Glück war noch bei unseren Versuchen, dank dem Dazwischenkommen von Schimmelbildung, der Unterschied in der Bakterienflora bei einigen zu vergleichenden Versuchen augenscheinlich klar, aber solch eine Klarheit kann nicht immer vorliegen, und die Unterschiede in der Bakterienflora können bei einer derartigen Anordnung gar nicht in Rechnung gebracht werden. Das Nämliche gilt für die Versuche auch aller anderen Forscher, welche sich mit der Klärung der Rolle des Gipses bei der Mistverrottung beschäftigten. Die Sache ist nämlich die, daß bei allen diesen Versuchen die Frage der Bakterienflora der Versuchsportionen vollständig ignoriert wurde; bei jeder Versuchsreihe sorgt der Forscher gewöhnlich für möglichst genaue Beobachtung gleicher Bedingungen bei Anordnung der Versuche, und das wird in bedeutendem Maße erzielt, derartige Versuche werden als gleichartige betrachtet, während in der Tat der wichtigste Faktor bei ihnen — die Bakterienflora der Versuchsportionen des Mistes — vollkommen unbekannt ist, und zweifellos ist in jeder gegebenen Portion diese Flora mehr oder weniger verschieden, und in Abhängigkeit davon sind auch die in den Mistportionen sich abspielenden Prozesse verschieden. Aus der ganzen Reihe der hier vor sich gehenden Prozesse, wie z. B. der ammoniakalischen Gärung, Nitrifikation, Denitrifikation u. s. w., können die einen in den betreffenden Mistportionen vor sich gehen oder nicht, ebenso können diese mit größerer oder geringerer Energie verlaufen, miteinander in verschiedene Kombinationen treten, woraus eine derartige Maskierung der einen Erscheinungen durch andere resultiert, daß es äußerst schwer fällt, den Einfluß irgend eines einzigen Faktors und im einzelnen, wie z. B. in unserem Fall, den Einfluß des Gipses auf die Mistverrottung ins Klare zu bringen. Das ist die Ursache davon, daß bei den einen Autoren Gips den Mist vor NH_3 -Verlust schützt, nach Ansicht der anderen umgekehrt — den Verlust von Ammoniakstickstoff fördert; die einen behaupten, daß Gips den Verrottungsprozeß des Mistes steigert, die anderen wiederum finden ihn in dieser Beziehung als indifferent oder sogar als Konservierungsmittel. Nach unserer Ansicht sind der richtigste, wissenschaftlich

exakte Weg zur Entscheidung der Frage des Einflusses des Gipses auf die Mistverrottung — die Versuche mit Reinkulturen. Leider haben wir es hier mit einer nicht wünschenswerten, aber unbedingt notwendigen Operation, der Sterilisation des Mistes, zu tun; man darf aber die Schattenseite dieser Operation nicht übertreiben. Natürlich wird bei der Sterilisation die chemische Beschaffenheit des Mistes in gewissem Grade verändert, doch schließt dieser Umstand es nichtsdestoweniger nicht aus, daß die Anstellung von Versuchen mit Reinkulturen zweckentsprechend sei. Unsere Arbeit „Ueber die Bakterienflora des Pferdemistes“ enthält eine ganze Reihe von Versuchen an sterilisiertem Miste mit Reinkulturen, und wir konnten dabei unter den untersuchten Mikroorganismen solche mit der Eigenschaft, ammoniakalische Gärung hervorzurufen, andere wieder in dieser Hinsicht vollkommen indifferente isolieren. Somit können wir, bei Experimenten mit sterilisiertem Miste, nach Wunsch durch Impfung des Mistes mit entsprechenden Mikroorganismen in letzterem nur ammoniakalische, durch keine anderen gleichzeitig vorsichgehenden Prozesse maskierte Gärung hervorrufen, und bei derartiger Anordnung des Versuches wird es schon nicht schwer fallen, die Frage zu beantworten, schützt der Gips vor NH_3 -Verlust, oder umgekehrt, steigert es diesen Verlust; mit derselben Klarheit läßt sich auch die Frage über den Einfluß des Gipses auf den quantitativen Oxydationsprozeß der organischen Substanz des Mistes aufstellen. Theoretisch liegt kein Grund vor, auch irgend eine wesentliche Veränderung der chemischen Natur des Gipses bei der Sterilisation anzunehmen, wofür indirekt auch unsere Versuche sprechen.

Nach unserer Meinung ist es also besser, behufs einer besseren Lösung der Frage über den Einfluß des Gipses, sich mit einigen Fehlerquellen, welche die Sterilisation mit sich führt, auszusöhnen, als mit einem derartigen, gewiß großen Fehler der früheren Versuche, wie es die völlige Unbekanntheit der Bakterienflora der Versuchsportionen des Stallmistes ist, zu rechnen. Auf Grund des hier ausgesprochenen Standpunktes glauben wir, daß man die zuverlässigste Schlußfolgerung unter sämtlichen hier angeführten Versuchen von den zwei letzten ableiten kann. Auf Grund letzterer können wir behaupten, daß, wenn in der frischen Mistmasse nur ammoniakalische Gärung mit NH_3 -Ausscheidung vor sich geht, der Gips im stande ist, letzteres zu binden und auf solche Weise den Mist vor dem Verluste von Ammoniakstickstoff zu bewahren, indem es diesen Verlust um die Hälfte herabsetzt, andererseits — steigert der Gips den Oxydationsprozeß der organischen Substanz des Mistes, aber bloß in geringem Grade. Freilich ist ein einziger Versuch nicht ausreichend zur Entscheidung der Frage; sogar so elementar angeordnet muß noch eine Reihe von nachprüfenden Versuchen angestellt werden, um mit der größten Sicherheit einen bestimmten Schluß zu ziehen. Um so weniger entscheidet ein derartiger Versuch die allgemeine Frage des Einflusses des Gipses auf den Mist, in welchem gleichzeitig eine Reihe von bei seiner Verrottung gewöhnlichen Prozessen vorgeht. Eigentlich ist solch

ein elementarer Versuch die Vorstufe zur Lösung überhaupt sämtlicher weiteren Fragen über Verrottung und Konservierung des Stallmistes. Durch Einführung von Reinkulturen von Vertretern diverser Gärungen in die sterile Mistmasse können wir allmählich auf dem Wege mannigfacher Kombinationen die Erscheinungen des organischen Lebens im Stallmiste immer mehr komplizieren und auf diese Weise, allmählich von einfachen Erscheinungen zu mehr komplizierten übergehend, mit mehr Zuversicht auf Erfolg und mit größerer wissenschaftlicher Exaktheit auf eine Lösung der äußerst komplizierten Fragen über Verrottung und regelrechte Konservierung des Mistes rechnen. Nichtsdestoweniger werden durch diesen Standpunkt die üblichen Versuche ohne Reinkulturen lange nicht ausgeschlossen. Wie wir bereits ausgesprochen haben, sind auch die Versuche mit Reinkulturen nicht von einzelnen Fehlerquellen frei, darum eben muß die wahre Entscheidung der Frage sichtbar durch Anwendung und Gegenüberstellung beider Untersuchungsmethoden, welche dann gegenseitig sich korrigieren würden, erzielt werden.

Zum Schluß muß darauf hingewiesen werden, daß die oben aus dem Versuche mit Reinkulturen abgeleitete Schlußfolgerung über die günstige Wirkung des Gipses auch von den Versuchen der Tabelle II bestätigt wird. Die Versuche der Tabellen I und II ziehen wir, wie oben gesagt, bei dieser Besprechung wegen des Dazwischenkommens der Schimmelbildung nicht in Betracht. Die Versuche der Tabelle II, d, b mit nicht sterilisiertem Mist und demnach mit natürlicher Bakterienflora heben eigentlich noch demonstrativer die günstige Wirkung des Gipses hervor — hier kommt es so heraus, daß der Gips alles im Miße reichlich gebildete NH_3 zurückhielt. Wie groß bei dem Vergleiche der Versuche der Tabelle II und IV der Einfluß der Sterilisation und der verschiedenen Bakterienflora auf unsere Schlußfolgerungen war, läßt sich natürlich schwer bestimmen. Auf jeden Fall war das Ergebnis derselben ein identisches, zu Gunsten des Gipses. Daß der Gips bei diesen Versuchen den Verrottungsprozeß des Mistes steigerte, dieser Umstand läßt sich ihm wohl kaum als großes Minus anrechnen; erstens ist diese Steigerung nicht groß — 10—20 Proz., und zweitens darf man nicht vergessen, daß es die Aufgabe des Landwirtes ist, den Mist nicht zu konservieren, sondern daß im Gegenteil sein Streben darauf gerichtet ist, den Mist in beträchtlichem Maaße verrotten zu lassen, denn nur dann wird er für landwirtschaftliche Zwecke tauglich sein. Darum ist es kein großes Unglück, wenn Gips auch in geringem Grade den Verrottungsprozeß des Stallmistes steigert.

15. September 1903.

Einiges über die Biologie der Käseanaëroben.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rom.]

Von Dr. **Antonio Rodella.**

III.

Zum Schlusse meiner letzten Mitteilung¹⁾ habe ich die Vermutung v. Freudenreichs bezüglich der Käseanaëroben als nicht zutreffend bezeichnet; der diesbezügliche Passus Freudenreichs lautet: „Sporen derselben (Anaëroben), die ja auch im Kuhkot sich vorfinden, werden in jedem Käse vorhanden sein, aber nach meiner Erfahrung kommen diese Sporen gar nicht zur Entwicklung²⁾.“

Wir versprochen damals, in einer Schlußarbeit auf unsere obige Behauptung näher einzugehen, da diese aber noch in die Ferne gerückt ist, sehen wir uns veranlaßt, unsere Behauptung durch folgende Mitteilung zu begründen: Zwar hatte v. Freudenreich damals, als er jenen Satz aufstellte, gar keine Berechtigung dazu, indem negative Befunde immer mit großer Vorsicht aufzufassen sind; doch könnten seine späteren Untersuchungen, bei denen er durch ausschließliche Verwendung der Milchsäurebakterien eine volle Reifung des Emmenthaler Käses hervorrufen konnte, den Glauben erwecken, daß Anaëroben bei der Käsereifung nicht beteiligt sind. Es mußte allerdings der Beweis erbracht werden, daß damals auch keine vorhanden waren, und deshalb stellte v. Freudenreich bei diesen Käsen diesbezügliche Untersuchungen an, welche ein negatives Resultat ergaben.

Ja sogar bei einem mit Milchsäurebakterien und *Paraplectrum foetidum* hergestellten Käse war der anaërobe Mikroorganismus nicht mehr zu finden. Diese Tatsache klingt allerdings eigentümlich befremdend; man wäre vielleicht geneigt, anzunehmen, daß der durch Milchsäurebakterien in zu großen Mengen produzierte Säuregehalt das *Paraplectrum foetidum* getötet habe. Und zwar war die saure Reaktion der Käse eine Waffe in den Händen der zwei hervorragendsten Forscher auf diesem Gebiete, Weigmann und v. Freudenreich, um sich gegenseitig zu bekämpfen. Weigmann, der die Rolle der Milchsäurebakterien nur dafür auffaßte, als sie die anderen Bacillen durch ihre Säureproduktion im Zügel hielten, war wenig geneigt, denselben auch ein peptonisierendes Vermögen zuzuschreiben, so lange sie sich in einem stark sauren Medium entwickelten. Es ist in der Tat von v. Freudenreich nachgewiesen, daß Milchsäurebakterien Kasein zu lösen und auch noch weiter zu zersetzen vermögen. Die Versuche sind aber in der Weise angestellt, „daß die durch die Bakterien erzeugte Milchsäure durch kohlen-sauren Kalk gebunden worden ist, um auf diese Weise die eine Seite der physiologischen Wirkung der Milchsäurebakterien, das Peptonisierungsvermögen nämlich, durch Milch-

1) Diese Zeitschrift Bd. X. No. 24/25. 1903.

2) Centralblatt f. Bakt. II. Abt. Bd. V. 1899.

säure nicht weiter zu hemmen.“ Weigmann bemerkt dann richtig, daß diese Untersuchungen nicht dem der Sachverhalte entsprechen, indem die Milchsäurebakterien auch im sauren Boden eine Peptonisierung hätten hervorrufen müssen.

v. Freudenreich bemerkt dann seinerseits, daß, wenn die Ansicht Weigmanns richtig wäre, auch seine Theorie, d. h. die Tyrothrix-Theorie, sehr gefährdet sei, indem Tyrothrix-Bacillen auf saurem Boden sich gar nicht entwickeln. Wir haben schon im Anfang unserer Untersuchungen die Reaktion der Nährböden ins Auge gefaßt, überzeugt von der Wahrheit folgender von Boekhout und de Vries aufgestellten Sätzen¹⁾: „Wenn man jetzt annehmen will, daß die Käsereifung ihre Ursache in Mikroorganismen findet, so müssen diese den nachfolgenden Bedingungen entsprechen:

- 1) Ohne Sauerstoff leben zu können, also anaërob sein.
- 2) Kein Milchzucker für ihren Lebensunterhalt absolut notwendig sein.
- 3) Müssen sie in stark saurer Umgebung leben können.“

Schon im Jahre 1901 hatten wir durch Anwendung von 1 Proz. Essigsäurebouillon Anaëroben isoliert, die auch in sauren Medien leben konnten²⁾.

Hier handelt es sich aber nicht nur um die Möglichkeit, diese Lebensbedingungen bei Käsebakterien zu finden, sondern vielmehr die Frage zu beantworten, ob wirklich solche existieren, die auch in saurer Umgebung im Stande sind, das Kasein in lösliche Produkte überzuführen. Nach dem jetzigen Standpunkt der Bakteriologie war diese Möglichkeit fast ausgeschlossen, wie auch aus den letzten in der Literatur erschienenen Arbeiten zu ersehen ist.

So finden wir z. B. auch in dem jüngst erschienenen Lehrbuche von Kolle und Wassermann (Bd. I. p. 106) folgendes: „Die peptonisierenden Fermente der Bakterien sind nur bei alkalischer Reaktion wirksam; schon geringe Acidität wirkt hemmend, während selbst ein starker Ueberschuß an Alkali leicht vertragen wird. Diese Fermente ähneln also in ihrer Wirkung dem Trypsin.“

Um diese Frage jedoch zu prüfen, stellten wir in verschiedenen Richtungen Untersuchungen an. Zuerst bereiteten wir $\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäurebouillon, verteilten dieselbe in Gruberschen Röhrchen, in welche wir zerriebenen Emmenthaler Käse in Quantitäten von ca. 0,5 g hineintaten. Besondere Aufmerksamkeit verwendeten wir darauf, eine vollständige Anaërobiose zu erhalten. In einigen Röhrchen waren schon am 3. Tage bei 37° aufsteigende Gasblasen zu bemerken. In der 3.—4. Woche war der Käse zum Teil verschwunden, und die mit der Flüssigkeit angestellten Kulturen ergaben das Vorhandensein anaërober Bakterien. Diese Befunde veranlaßten uns, ausgedehntere Untersuchungen in dieser Richtung vorzunehmen. Wir verwendeten anstatt Milchsäurebouillon Peptonwasser mit $\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäure. In Gruberschen Röhren oder in Pasteurschen Pipetten wurden in gleicher Weise wie oben, mit

1) Diese Zeitschrift. 1901.

2) Ueber anaërobe Bakterien im normalen Säuglingsstuhle. (Zeitschrift für Hygiene. 1902.)

zerriebenen Käse Versuche angestellt, welche ein negatives Resultat ergaben. Dann verfahren wir in der Weise, daß wir in die Peptonwasser mit $\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäure die aus den positiven mit Milchsäurebouillon angestellten Untersuchungen isolierten Anaëroben neben zerriebenem Käse hineintaten.

Die Anaërobiose wurde wie oben hergestellt. Hier war der Befund vorwiegend ein positiver.

Anstatt des zerriebenen Käses haben wir dann frisches, gut gewaschenes, aus Kuhmilch dargestelltes Kasein, welches bei 120° 30' lang sterilisiert wurde, verwendet. Dieses Kasein wurde zu 0,5 Proz. Milchsäurebouillon und 0,5 Proz. Milchsäurewasser hinzugefügt; für die Impfung wurden die gleichen Anaëroben wie in den obigen Untersuchungen verwendet. Die Anaërobiose erfolgte auch hier in Buchnerschen Röhrchen. Das Kasein wurde auch in diesen sauren Medien von den anaëroben Mikroorganismen angegriffen. Zum Teil wurde dasselbe erweicht, zum Teil zeigte es einen eigentümlichen Zustand und lag am Boden des Röhrchens in Form von kleinen Flocken.

Wir wollen hier bemerken, daß unsere Untersuchungen bis jetzt nur mit Emmenthaler Käse bzw. mit aus Emmenthaler Käse isolierten Anaëroben angestellt wurden. Es muß noch besonders hervorgehoben werden, daß diese Anaëroben, welche auch in sauren Nährböden im Stande sind, das Kasein anzugreifen, in alkalischer Umgebung dieses Vermögen in höherem Maße besitzen.

Es handelt sich bei der sauren Reaktion des Substrates sehr wahrscheinlich nicht um eine Umwandlung, sondern um eine Einschränkung der Funktionen dieser Bakterien.

Daß neben der Acidität auch andere Faktoren, wie Temperatur, Feuchtigkeit etc. mitwirken, brauchen wir hier nicht zu erwähnen.

Tissier und Gasching¹⁾ unterscheiden die Fermente in einfache und gemischte. Sie sagen: Les ferments mixtes d'une part qui attaquent simultanément les albuminoïdes et les hydrates de carbone en produisant des acides. Ils se subdivisent en protéolytiques mixtes et en peptolytiques mixtes. Les ferments simples d'autre part qui localisent leur action sur la matière protéique et qui se subdivisent également en protéolytiques simples et peptolytiques simples. Nach diesen Autoren würden der *Bacillus putrificus* Bienstock und der *Bacillus oedem. maligni* den Uebergang bilden zu den einfachen Fermenten, wie z. B. der *Tetanusbacillus* und die gemischten Fermente.

Im Gegensatz dazu zählt Achaalme²⁾ auch den *Tetanusbacillus* unter die „*Bacilles anaërobies tryptobutyriques*“, welche durch Gärung der Kohlehydrate eine Mischung von Essig- und Buttersäure bilden. Die Vertreter dieser Gruppe wären nach genanntem Autor folgende: 1) *Bacillus oedemat. maligni*, 2) *Rauschbrandbacillus*, 3) *Tetanusbacillus*, 4) *Bac. botulinus*, 5) *Bac. putrificus coli*, 6) *Bac. von Achaalme*, 7) *Bac. enteritidis sporogenes*, 8) *Bac. perfriquens*, 9) ein von Legros aus Wasser isolierter *Bacillus*.

1) Annales de l'Institut Pasteur. Tome XVII. 1903.

2) Ebendaselbst. Tome XVI. 1902.

Die umfangreichen Untersuchungen von Schattenfroh und Grassberger widersprechen den von Tissier bezüglich des *Bac. putrificus* gewonnenen Resultaten.

Wir haben auch in voriger Mitteilung eine kleine Skizze der Einteilung der Buttersäurebacillen nach Schattenfroh und Grassberger vom morphologischen Standpunkt aus gegeben. Da die biologischen Leistungen dieser Gruppe für die Frage ihrer Bedeutung bei der Käsereifung nicht ohne Wert sein werden, so erlauben wir uns, aus der letzten, im Archiv für Hygiene von genannten Autoren veröffentlichten Abhandlung¹⁾ folgendes zu entnehmen:

Beweglicher Buttersäurebacillus (*Amylobakter*).

Reiner Kohlehydratvergärer, zersetzt nicht Eiweiß, bildet aus demselben auch keine nennenswerten Mengen Schwefelwasserstoff. Bildet aus Kohlehydraten vorwiegend Buttersäure.

Rauschbrandbacillus und Gasphlegmonebacillus, sporulierend und denaturiert (unbeweglicher Buttersäurebacillus) exquisite Kohlehydratvergärer, bilden Schwefelwasserstoff, führen selten zu einer weitergehenden Eiweißzersetzung. Bilden aus Kohlehydraten im sporulierenden Zustande vorwiegend Buttersäure, denaturiert, vorwiegend Milchsäure.

Bacillus des malignen Oedems.

Kohlehydratvergärer, häufig auch Fäulniserreger. Bildet aus Kohlehydraten vorwiegend Milchsäure und regelmäßig Aethylalkohol.

Fäulniserregender Buttersäurebacillus (*Bac. putrificus* Bienstock, Kadaverbacillus etc.)

Kohlehydratvergärer, regelmäßig auch Fäulnißerreger. Bildet aus Kohlehydraten vorwiegend Milchsäure und regelmäßig Aethylalkohol.

Schattenfroh und Grassberger halten (wie die oben genannten Autoren) die saure Reaktion des Substrates für das Kaseinpeptonisierende Vermögen der Buttersäurebacillen als hindernd. In diesem Punkte stimmen also die Angaben aller Autoren überein.

Ohne uns auf diese Frage tiefer einzulassen, was wir bei anderer Gelegenheit tun werden, genügt es uns, festzustellen, daß in Hartkäsen Anaeroben existieren, die in $\frac{1}{2}$ Proz. Milchsäure enthaltenden Nährböden nicht nur wachsen, sondern auch eine erweichende Wirkung auf Kasein ausüben²⁾.

In seiner letzten Arbeit sagt Tissier³⁾:

Tout d'abord, comme l'ont déjà vu de nombreux auteurs, le lait contient, à sa sortie de la laiterie tous les germes nécessaires à sa complète putréfaction, germes qui ne se multiplieront, que lorsque le milieu leur est devenu favorable.

1) Bd. XLVIII. 1. Heft.

2) Dieser Befund scheint uns auch dadurch an Interesse zu gewinnen, da in einer Arbeit von Bouska (*Revue générale du lait*. 3^e Année. 15 octobre 1903. No. 1) gesagt wird: L'acide lactique dans la proportion de 0,5 proz. et plus détruit presque complètement le *B. subtilis* dans l'espace de quelques jours.

3) Tissier et Gasching, loco citato.

Ich möchte hier nur darauf aufmerksam machen, daß der Gang der Untersuchungen von Tissier sich verschieden gestaltet hätte, wenn dieser Autor auch die Verhältnisse der Milch zu der Luft oder, was dasselbe ist, die größere oder geringere Oeffnung der Gefäße und die vollständige oder unvollständige Füllung derselben mit Milch ins Auge gefaßt hätte.

Nachdruck verboten.

A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment.

By Mary Hefferan, Ph. D.,

Bacteriological Laboratory, the University of Chicago, U. S. A.

(Fortsetzung.)

The culture here described is of unknown origin, having been in the laboratory (University of Chicago), some years under the name *B. havaniensis*. It agrees exactly with Sternberg's description as far as that goes. Growth in bouillon is similar to that described for *B. ruber* Zimmermann. Litmus milk is unchanged except for orange pigment at the surface. No gas is produced; growth but no pigment occurs at 37°. It differs very little from *B. rubricus*, i. e., only in bouillon and in milk.

B. lactis erythrogenes (Hueppe).

It was long ago observed in dairies that so-called bacterial "red milk" occurred in one of two ways; either red flakes appeared on its surface, or the whole mass of liquid was colored red. The former phenomenon is ascribed to *B. prodigiosus*; the second is usually due to an organism discovered in 1886 by Hueppe, and described in 1889 by Grotenfeldt, (63) as *B. lactis erythrogenes*. This organism, according to Grotenfeldt, is a small rodlet, 1—1.4 μ long, non-motile and sporeless. The gelatin colonies are small, round, and at first grey-white, later yellow, as the gelatin becomes liquefied. Around them the gelatin has a rose tint. A gelatin stab culture liquefies slowly from the top. After 10—12 days the liquefied portion is red, with a yellow sediment, while the solid portion below is a weak rose color. The growth on potato and agar is yellow, and after 6—8 days at 37° C, the pigment becomes a deep golden color. Bouillon is cloudy and yellow. Milk undergoes a slow precipitation of casein, leaving a clear serum which becomes blood red; the reaction is alkaline. The organism is not pathogenic; the cultures are characterized by a sweet odor.

My culture of *B. lactis erythrogenes*, from Král, agreed closely with this description. Another culture, isolated in November 1901 from Mississippi River water, corresponded to the Král culture in all characters except that the color of the yellow pigment was a shade lighter, with a tendency to appear much later in the growth. The following details may be added to the descrip-

tion of these cultures: Growth on agar is moist, luxuriant and yellow, while the medium becomes rose colored as in gelatin, and even wine red. The yellow growth on potato shows often a slight pink tinge, the potato becoming dark and discolored. Blood serum not liquefied; no gas in sugar bouillon; no development without free oxygen; development with pigment at 37° C; nitrates reduced to nitrites. The sweet odor of the cultures is very noticeable.

B. rubefaciens (Zimmermann).

Isolated from the Chemnitz water supply and described by Zimmermann in 1890 (67). Characterized by a rose red color which diffuses throughout solid media such as gelatin or agar. Morphologically, a thin rodlet, 1—1.6 μ long, often in chains of two or three. Actively motile, no spores. Gelatin colonies appear as minute white dots in 48 hours; under low power, pearly, thinner at the edge, which is well defined, finely granular. In gelatin stab, small spherical white colonies occur along the needle track, giving a characteristic appearance. The surface colony is yellowish, and in old cultures a red tinge may be seen in the medium. No liquefaction. Agar colonies, not characteristic in ten days, small, white, with fragmented edges. An agar slant culture shows a white, smooth, shining, somewhat luxuriant growth. In old cultures the medium takes on a distinct wine-red color, clear and transparent. Zimmermann does not specify this as true for agar, only for gelatin and potato. A heavy cream white layer forms on potato, which later becomes yellow brown. I observed no rose color here, but a brown discoloration of the potato. Bouillon becomes cloudy with a white surface pellicle; after 6—8 weeks it may show a slight reddish tinge. Litmus milk is decolorized and acid, but coagulates at the end of ten days only on boiling. No gas is formed, no growth at 37° C, nitrate reduced to nitrite, facultative anaerobe.

B. lactorubefaciens (Gruber).

Received from Gruber in November, 1902. Upon examination it agreed closely with the original description. I found however, that the deep growth in gelatin was sometimes arborescent, and that the medium was tinged red. On agar and potato, a white spreading growth. Bouillon is turbid, with pellicle and sediment. The colonies are coli-like. Milk is made rose colored and very slimy; litmus milk shows slight acidity, but does not coagulate at room temperature. The organism does not develop at 37° C, which fact, together with its behavior in milk, its lack of yellow pigment, and its motility, distinguish it from *B. lactis erythrogenes*.

B. rutilescens (n. sp.).

Isolated from Mississippi River water in 1901. Its characters connect it both with the *Prodigiosus* group and with the *Lactis erythrogenes* group. Morphologically, an actively motile bacillus, like *B. rutilus* and *B. rubefaciens*, unlike *B. lactis erythrogenes*. No spores. Gelatin plates show white, non-characteristic colonies which soon liquefy the gelatin. A stab cul-

ture is liquefied rapidly, with a white cumulus sediment, and a white pellicle. Later the liquid portion becomes a beautiful clear rose, and the floating pieces of sediment take on a pink tinge. Agar colonies are often spreading, like those of *B. rutilus* or *B. ruber indicus*, without pigment. Agar slant shows a luxuriant, smooth, moist, white growth, much like the pigmentless culture of *B. fuchsinus*. Potato, luxuriant, white, and spreading. Bouillon, marked turbidity, with white sediment and thin pellicle. Litmus milk, at room temperature slightly acid, coagulating in three days. At 37° C, coagulation in 48 hours, followed by partial peptonization. Gas production, negative; facultative anaerobe, nitrates reduced to nitrites. Unlike *B. rubefaciens*, grows rapidly at 37° C.

B. mycoides roseus (Scholl).

What seems to be the original description of this organism is a footnote to Grotenfeldt's article on *B. lactis erythrogenes* (69) (1889), mentioning a bacillus isolated from earth by Scholl, and studied in the laboratory of Hueppe at Wiesbaden. The bacillus formed red felt-like colonies on gelatin, causing liquefaction. The gelatin had a red pellicle, but was not colored throughout. Agar cultures were red in the dark. It grew quickly at room temperature, and was morphologically like the anthrax bacillus.

Eisenberg (70), Kruse (3), and Migula (71) repeat this description, the latter two authors adding only the solution and spectrum analysis of the pigment as determined by Schneider (19). Macé (9 p. 256) mentions the organism. These are the only descriptions that I have found.

My cultures, I and II, were identical in all reactions tested. Morphologically *B. mycoides roseus* is usually smaller than the anthrax bacillus, but like it variable in size, rodlets from 2—10 μ long occurring in the same culture. In very old agar cultures, short, thick, often coccuslike, non-motile, no spores. Gelatin colonies are characteristic. They appear in three days as minute white dots, under low power showing an opaque center and edges broken or fringed as though crystallized; later the edges lose their fringing and become smooth. In ten days the colonies are 3—5 mm in diameter, somewhat creased and corrugated; they form slight depressions in the gelatin, but do not actually liquefy it. Gelatine stab culture develops slowly a slight needle growth and a dry, thick, corrugated pink colony on the surface. The needle growth is often finely arborescent, like that of the colorless *B. mycoides* figured by Lehmann and Neumann (7). Agar colonies appear in 48 hours; under low power they show the characteristic fringed edges seen in gelatin colonies. At five days they are pink and small to the eye, less than 1 mm in diameter, edges smooth and granular. Agar slant cultures show little development before 48 hours or three days. Then a salmon pink growth is seen, which becomes dull, dry, and wrinkled, deepening in color as it gets older, finally becoming vermilion. Potato, growth very slow, no

development for three or four days; at the end of ten days small orange dots, or if the potato is kept wet, an elevated, warty, moist, salmon pink growth. In 25 days a thick raised layer is seen, which is more orange in color than on agar. Bouillon, slow development, no turbidity. On the third day small round pink colonies appear at the surface; at the end of ten days the surface is covered with a thick agglomeration of salmon pink colonies, some of which sink to the bottom as sediment. Milk, at the end of ten days, shows only the characteristic salmon pink colonies floating on the surface; after 20 days, decidedly alkaline. No gas, no growth in the closed arm; growth and pigment nearly as good at 37° C as at room temperature; nitrates reduced to nitrites.

B. mycoides corallinus (n. sp.).

This organism was isolated from Mississippi River water in 1900, and has since been kept in stock in this laboratory (University of Chicago). Two years of artificial cultivation have somewhat changed its character, but it continues to show several seemingly constant differences from *B. mycoides roseus*, its resemblance to which has led to the adoption of the name.

When first isolated, young cultures showed a large anthrax-like bacillus, non-motile, sporeless; later the organism became somewhat diminished in size. Gelatin colonies are characteristic, but differ from *B. mycoides roseus*. They appear in three days as minute points, which under low power have a peculiar woolly, wispy look; as they develop, they become pink, smooth, and raised. Gelatin stab, slow development; a ten day growth is very characteristic, a fine feathery development along the needle track, and a raised, smooth, shining pink surface colony. The minute agar colonies of 48 hours show microscopically the characteristic wispy fibrillar branching; high power shows that the branching is made up of transparent beady ramifications extending in all directions. The colonies are larger than those of *B. mycoides roseus* of the same age. Agar slant culture is unlike *B. mycoides roseus* in being smooth, moist, and salmon pink in color. Growth on potato differs in the same way, the color deepening in 20 days to red. In bouillon cloudiness appears in 24 hours; later the turbidity increases, and a pellicle of small separate pink colonies covers the surface, falls as sediment on shaking, and is re-formed. Litmus milk shows strong alkali production and characteristic pigment. Otherwise like *B. mycoides roseus*.

B. latericeus [?] (Adametz, 72).

I could not obtain the original description of this organism. Migula (10) describes it as a non-motile rodlet, 3—5 times as long as thick, slow growing and non-liquefying. Chester (1) adds that the growth on agar is limited, moist, glistening, and reddish-brown to yellowish-brown; bouillon is clear and alkaline, with stringy sediment; potato, thin, moist, and reddish; litmus milk, decolorized and coagulated; indol, negative; no growth at 36° C. Lehmann and Neumann (7), who give a fuller description,

with plates, say that milk is not coagulated, the growth is from vermilion to reddish brown; no gas nor acid is formed from sugar, but traces of indol occur. Their culture was isolated from air and identified from Eisenberg's description (2).

My culture of *B. latericeus*, obtained from Král, does not agree with any of the above. Dyar (73) also notes the aberrancy of the culture which he received from the same source. Dyar's culture, to which he gives the new name, *B. fuscus pallidior*, agrees with that here described.

A short, non-motile bacillus, 1—1.3 μ long, and 0.5—0.7 μ broad, occurring single and in chains. Gelatin colonies after four days small, granular, with slightly irregular and ragged edges. Stab cultures show a slight needle growth, and on the surface a slow growing dry white colony, which after weeks lines a cup-like cavity with a thin dry spreading cream pink growth. No other evidence of liquefaction occurs than the cup shaped depression. Agar colonies are dry and shining to the eye; under low power the edge is ragged, showing the individual rodlets pushing out into the surrounding medium, Agar slant and potato show at first a dry shining whitish layer, which later becomes "crusty", wrinkled, and dull pink. Bouillon remains nearly clear, development taking place in a thick surface pellicle of paraffin-like consistency, from which flakes fall to the bottom of the tube on shaking. Litmus milk, not coagulated, but shows intense alkaline reaction and peptonization after a few weeks at 35° C. Aerobic, non-gas producing, nitrates reduced to nitrites, slight growth at 37° C.

B. rubropertinctus.

In his experiments with acid-resisting organisms, Grassberger (74) made, in 1899, from butter and from guinea pigs inoculated with butter, six isolations of the bacillus described below. My culture, obtained from Král in 1901, agrees in biological characters with Grassberger's original notes. As he gave it no name, I have called it on account of its staining reaction, *B. rubropertinctus*.

Grassberger describes a 24 hours agar culture as showing rods 1.5—3.0 μ long, having no trace of acid resistance when stained. Older cultures occasionally show longer bacilli, which retain the stain slightly when treated with 3 % acid alcohol, but never evince the true tubercle bacillus reaction. I found that a ten day potato culture, when stained on a cover glass together with *B. coli* by hot carbol fuchsin, washed several times with 10 % H_2SO_4 , and counter stained with methylene blue, resisted the acid perfectly, remaining bright red in contrast to the blue *B. coli*. The bacilli could not be mistaken for *B. tuberculosis*, being much shorter and thicker.

Gelatin plate shows characteristic colonies, the deeper ones ovoid in shape and granular, the superficial colonies irregular, with crenate edges, folded surface, and red color. Stab culture, slight needle growth and orange red surface colony as above no liquefaction. Agar colonies, very slow, being just visible to the naked

eye in five days; uniformly granular, and irregularly triangular. On agar slant, growth lustreless, dry, and spreading, later wrinkled and vermilion red. Grassberger records one culture that was moist. Potato development, slow but constant; at the end of ten days orange red, rough, granular, and moist. Bouillon, clear save for slight cloudiness at the top; a salmon pink pellicle is formed, which is constantly renewed as it sediments on shaking. Litmus milk shows no change except for the development of a pink pellicle; *B. rubropertinctus* is not gas-producing, grows at 37°, is aerobic. Grassberger notes slight indol production and cauliflower-like odor. My culture did not show these characters.

B. mesentericus ruber (Globig).

Isolated by Globig, 1888 (75), from potato. Described as a slender, motile, bacillus, with oval, very resistant, spores. Gelatine colonies, round and yellow in the depths; on the surface showing a fringe or halo of fine network, which breaks down in 3—4 days and liquefaction begins. Gelatin stab, funnel shaped liquefaction. Agar colonies are non-characteristic. Agar streak, dirty white and slightly wrinkled growth. On potato a dry growth of a beautiful pink color. Globig described bouillon as clear, with a thick pellicle; my cultures showed cloudiness and pellicle. Litmus milk, curdled and acid. No gas is produced, nitrates are reduced, growth with rose color at 37° C.

Two cultures from Král, 1900, 1903, differed from the above description in not showing spores. Three cultures isolated from the Mississippi River water at different times were used as the basis of this description.

C. Comparative and experimental study.

I. Color determination of bacterial pigment¹⁾.

The increasing tendency towards the adoption of definite terms of positive, negative, or quantitative value in bacterial descriptions has not been generally extended to the determination of color produced by bacteria. The pigmentation of an organism still furnishes an opportunity for a more or less lax and indiscriminating nomenclature. Thus, among the red series one whole classification has been made on the basis of such divisions as these: "Pigment carmine", "pigment flesh-colored", "brick-red", "reddish", "rose-colored", "salmon-pink", "yellowish-reddish", "brownish-red", "pinkish", "reddish-pinkish", "blood-red", "red-brick-red". These distinctions may call up well defined color pictures to individual workers, but it is evident that there are difficulties in the way of fitting a new chromogenic organism to such an imaginative scheme.

In default of a more exact method, statistical biologists have

1) The chemical nature of bacterial pigment, its solubility, and its spectrum analysis have been discussed at length by Schröter (29), Cohn (30), Griffiths (39), Scheurlen (43), Schneider (19), Rosenberg (45), Kraft (49), and others.

for some time employed a color top¹), upon which discs of the primary colors may be arranged, showing sectors of definite proportions; when the top is rotated rapidly the colors blend and give the intermediate tints. Any color may thus be matched, and the percentage of primary colors which go to make it up very closely determined. This method is easily applicable to bacterial colors. Other color-terms appearing in this paper are either quoted or used of the culture media in distinction from the bacterial pigments.

One difficulty, however, in determining bacterial pigment, is the possible range of variation in any one organism under influence of preliminary cultivation, reaction of media, and age of culture; so that one color-determination may be insufficient for general description. Neither can the mean of several determinations be specified as the typical color of a given organism. But, allowing for occasional degenerate or pigmentless cultures, if an organism has been put through the regular course of rejuvenation and then grown on slant agar of definite composition and reaction, the pigment of young and of ten day old cultures can be fairly well characterized. The appended tables will give an idea of the results of this method; and the terms used in this paper to designate the different reds will have definite meaning as follows:

	Red	Orange	White	Blue
Vermilion	30	70		
Orange red	45	55		
Salmon pink	50	25	25	
Pink	50	25	22	3
Violet red	80	15		5
Red	90	10		
Dark red	100			

(see Table I p. 463.)

Of the cultures producing "insoluble" pigment on agar, which are studied here, a division may be made into three groups, according to color of pigment.

I. The *B. prodigiosus* group, including

- B. prodigiosus*,
- B. ruber indicus*,
- B. ruber plymouthensis*,
- B. kiliensis* (*B. ruber balticus*),
- B. miniaceus*,
- B. rutilus*,
- B. amylo-ruber*,
- B. fuchsinus*,
- B. ruber miquel*.

The members of this group develop on agar a pigment in mass, which shows a large percentage of pure red, with varying quantities of orange and sometimes a small amount of blue, which gives a violet tinge, or of black. They are characterized by the fact that the amount of orange diminishes as the cultures age;

1) The Milton Bradley color top has standard colors of the following wavelengths: Red, 656—661; orange, 606—611; yellow, 577—582; green, 514—519; blue, 467—472; violet, 419—424. For method cf. Davenport, C. B., *Statistical Methods*. New York, 1899, p. 9.

Table I.

		R	O	W	Blue	Blk	V
<i>B. prodigiosus</i> .	Agar slant, 48 hrs. (1.5 % +)	30	70				
	" " 5 da. "	75	25	(met. lus.)			
	" " 10 " "	90	10	"	"		
	Potato 48 hrs.	85	15				
	" 10 da.	60	10			30	(m. l.)
<i>B. ruber balticus</i> .	Gel. stab " " (liq.)	90	10				
	Agar slant, 48 hrs. (1.5 % +)	85	15	(met. lus.)			
	" " 10 da. "						
	surface	65	35				
	depth	100					
<i>B. rutilus</i> (n. sp., 1900)	Potato 48 hrs.	80	15	5			
	" 6 da.	95	2 1/2	2 1/2	(m. l.)		
	Gel. stab. 10 da. (liq.)	90	10				
	" " 10 da. (pellicle)	70	30				
	Agar slant, 24 hrs. (1.5 % +)	50	40	10			
<i>B. ruber Miquel</i> .	" " 48 " "	80	20				
	" " 10 da. "	68	14		3	15	
	" 10 " "	nearly black					
	Gel. stab. 10 " (liq.)	90	10				
	Agar slant, 48 hrs. (1.5 % +)	80	20	(met. lus.)			
<i>B. ruber indicus</i> .	" " 10 da.	85	10			5	(m. l.)
	Potato 48 hrs.	62	26	12			
	" 10 da.	68	22	10			
	Gel. stab. 10 " (colony)	80	20				
	Agar slant, 48 hrs. (1.5 % —)	70	25	5			
<i>B. ruber plymouthensis</i> .	" " 10 da. "	80	10			10	
	Potato 5 " "		30				70
	Gel. stab. 10 " (pellicle)	75	25				
	" " 10 " (liq.)			100			
	Agar slant, 48 hrs. (1.5 % +)	57	35		8		
<i>B. rubricus</i> (n. sp.) (slow)	" " 10 da.	75	20		5		
	Potato 48 hrs.	30	22	23			25
	" 10 da.	33	35	10			22
	Gel. stab. 10 " (pellicle)	80	20				
	" " 10 " (liq.)			100			
<i>B. havaniensis</i>	Agar slant, 10 days	63	30	2	5		
<i>B. rosaceus metalloides</i>	" " 10 "	55	45				
<i>B. mycoides roseus</i>	" " 10 "	57	43				
	" " 3 " (1.5 % +)	17	18	65			
	" " 5 "	15	35	50			
	" " 10 "	42	35	23			
	Potato 10 " (wrinkled)	57	33	6	4		
<i>B. mycoides coral</i> (n. sp.)	Agar slant, 10 " (1.5 % —)	50	25	25			
	Potato 10 " (smooth)	28	42	18	12		

at the same time there is an addition of black, i. e., the cultures grow darker. This group includes the "carmine", "blood red", and "violet red" cultures.

II. The *B. rubricus* group, including

B. rubricus,
B. ruber Zimmermann,
B. havaniensis,
B. rufus,
B. rosaceus metalloides.

Since these cultures are slower in development, the pigment appears somewhat later than in the organisms of group I. In young cultures a large percentage of orange is present, and the

cultures never grow black, but keep the orange red tone. Here are included "orange red", and "yellowish reddish" cultures.

III. The *B. mycoides roseus* group, including

- B. mycoides roseus*,
- B. mycoides corallinus*,
- B. rubropertinctus*,
- B. latericeus* (?).

This group differs from the last in the presence of a considerable percentage of white, with sometimes a trace of yellow. Here would belong the so-called "salmon pink", "coral pink", "rose", or "flesh colored" cultures.

Cultures producing "soluble" red pigment may be classed as the *Lactis erythrogenes* group, including

- B. lactis erythrogenes*,
- B. rutilescens*,
- B. rubefaciens*,
- B. lactorubefaciens*.

B. mesentericus ruber is peculiar in producing its pink or red pigment only on potato, not upon agar.

The term "Prodigiosus group" as used below, refers then to the series of Group I as described.

II. Variability in the *Prodigiosus* group.

1. Introductory.

In the discussion of variability or variation as regards bacteria, several complicating factors are present. In the first place, the facility with which bacteria, more than any other class of organisms, respond and adapt themselves to changes in the nature of their environment is a constant character in their biology. Again, a bacterial type, as we assume it, is more or less artificial, developed and maintained by our methods of culture, which are so arranged as to reduce or eliminate variation. And the old simple distinctions between typical varieties are now complicated not only by the natural variability of the organisms, but by the conception of intermediary paratypes, each with its own possibilities of variation.

The variability of bacteria, whether manifested spontaneously or under compulsion, seems to find its expression principally in the loss of certain characters or in their return after loss. If, for instance, *B. anthracis* be exposed to a temperature of 42°, *B. tetani* to a gradual admission of oxygen, or *B. prodigiosus* to the action of light, the organisms will all live and develop, but one will lose its power of sporulation, another its virulence, the other, its power of pigment production; and unless the abnormal conditions be maintained for many generations, and the process fostered by artificial selection, the organisms will, upon restoration to their usual environment, revert to their original "normal" type. These and many similar observations indicate that bacteria have a certain number of biological characters, without which they may continue to live; that these characters may be lost as a result of

environmental modification, but are so far typical that they tend strongly to return.

This "tendency to return" finds its nearest explanation quantitatively, that is, in considering as a factor in variation not only the effect of the environment upon the organism, but also the nature of the compound of characters which we term a type. The aberrant or white forms among the red, for example, may be considered as due to sudden or irregular predominance of characters always present, though latent or much in the minority; and the problem before the student of variability is the determination of the "lowest terms" to which an organism can be reduced, the discovery of the minimum and the maximum of characters which can be found to belong to each type.

The only means at our command for such investigation is the modification of the nutritive medium. Such culture media as agar, the composition of which is uncertain, do not give definite results; and I have employed, as set forth below, compounds whose elements and arrangement are more accurately known. Whatever modifications of the organism, i. e., whatever response, by disappearance of characters, has followed change in the environment, I have set down under the general head of range of normal variation, reserving the term discontinuous variation or mutation for the sudden appearance of by-forms without any apparent cause. For such sports I do not offer explanation. They may be due to a phenomenon parallel to what Weismann, speaking of budding, calls "abnormal differential nuclear division", or they may arise in response to physical external causes, confined to a very limited area, and invisible to us. But along with the cases of "discontinuous variation" in the higher organisms, they offer an interesting problem in the origin and differentiation of varieties.

2. Discontinuous variation or mutation.

Variations of bacterial cultures, apparently spontaneous in character, have been frequently noted. Dyar (65) considered that when tubes were filled with media from the same flask, inoculated at the same time from the same culture, and grown on the same shelf, variation resulting in such a series was "discontinuous". The possibility of contamination in bacterial cultures which may thus suddenly vary is always a question, which can only be decided by testing the new variety through a sufficient number of unchanged differential characters, as was done by Dyar in studying a "crusty" variety of *B. lactis erythrogenes*. The tendency, upon plating such a variety, for some of the colonies to revert to the parent type may be viewed as proof of the true nature of the variation.

Among chromogenic cultures the most frequently observed "sport" variation is in the appearance of colorless colonies upon a plate where the majority of colonies are normal. Such colonies are of course more numerous in plates made from old or degenerate cultures, and decrease gradually with successive transferences. Thus five *B. prodigiosus* cultures which were obtained from

different laboratories showed the following variations in the early platings. All the plates were made in the same way, and were second dilution. The original agar cultures were evidently young, were all growing well, and were all pink or red in color except No. V, which showed no pigment, and, as I was informed, had not for at least two months back. The first result on 48 hour agar plate was:

B. prod. IV, 200 small colonies, apparently all orange red.

B. prod. V, 2 pink colonies, 48 white.

B. prod. VI, 300 to 400 colonies, all red.

B. prod. VII, 35 soft spreading white colonies, 3 pink.

B. prod. VIII, 5 smooth round colonies, all violet red.

All the agar streak inoculations from red colonies, and some from white ones, gave ordinary red cultures of varying intensity; and it was evident that the number of abnormal white colonies which appeared as "sports" on the plates were in each case only an indication of the degree to which the colorless variations of the original cultures had gained an ascendancy over the red type through continued unfavorable conditions, probably because of long intervals between transferences. That this was the case was shown by a second plating after rejuvenation, fifteen days later. The results of this were:

B. prod. IV, 400 brilliant vermillion colonies.

B. prod. V, 50 violet red colonies, 5 white ones.

B. prod. VI, — all red.

B. prod. VII, 683 colonies, some spreading, all vermillion.

B. prod. VIII, 26 smooth violet red colonies, 1 white.

There are, however, exceptions to the good results of rejuvenation unless plating and careful selection of colonies is a part of the process. It sometimes occurs that an old culture on neutral agar which has stood in the stock case two or three months will give a brilliant pigment on the first transference to neutral agar again, while successive inoculations will seem to diminish the pigment production. The first vigor may be the result of natural selection, but I have no explanation to offer for the later deterioration in this case.

Light colored or colorless colonies which appear as discontinuous variations upon plates often give rise to apparently constant varieties. Such a colony of *B. ruber miquel* produced a luxuriant white agar streak, which showed only a few pin-point dots of red. This was allowed to grow for several weeks, and the next and several future transfers gave pure white cultures with all the other characters of *B. ruber miquel*. Davis¹⁾ notes "sports" of *B. roseaceus metalloides* which gave rise to dark and to light colored varieties.

Among my series several instances of discontinuous variation in mass cultures have appeared. A "crusty" variety of *B. amylo-ruber* occurred, as in the case of Dyar's *B. lactis erythrogenes*, after a summer's storage. The original culture had not become contaminated, the pigment of the wrinkled crusty culture was

1) Davis, N. F., Science. Vol. XIII. 1901. p. 324.

identical in violet red color and rapidity of development with that of the original, and all the other characters were true. Upon plating some colonies gave rise to the original soft smooth growth; a series of cultures made after exposing the variety for varying lengths of time to the sunlight also showed one tube like the original, a tube made after 30 minutes' exposure. This result is explicable on the theory of the selective action of sunlight, as noted below.

Variations in colony contour, noted in the case of *B. ruber indicus*, *B. rutilus*, *B. fuchsinus*, *B. amylo-ruber*, and rarely for *B. kiliensis*, where proteus-like and round surface colonies appeared on the same plate, are to be explained partly through physical conditions of the media, and partly by spontaneous variations which arise in the viscosity of the capsular envelope or in the motility of the organism. Agar streaks from the proteus colonies were sometimes slightly more spreading, but the next plate might show total reversion to the round type.

B. plymouthensis is recorded in the original description as differing from *B. prodigiosus* in marked viscosity on agar and potato cultures. Dyar (loc. cit.) uses viscosity of *B. plymouthensis* to distinguish it from *B. prodigiosus* and *B. rosaceus metalloides*. My culture also differed in producing gas in lactose and sucrose bouillon and in standard asparagin dextrose solution, as well as in a strong fecal odor. During a two years' observation of this culture, viscosity seemed as constant a character of *B. plymouthensis* as any other of these differences. But the next year, upon revival of the cultures after two months' summer storage, *B. prodigiosus* I was found to evince the agar culture viscosity of *B. plymouthensis*. Contamination naturally suggested itself as first explanation, but plating and examination showed the *prodigiosus* culture to be true in all other respects as noted above, and it was necessary to ascribe the viscosity to a variation which had arisen in the old summer culture and become dominant accidentally in the first plating. Three different cultures now show this peculiarity, the third, *B. prodigiosus* VIII, presenting it when received at the laboratory. These observations make it necessary to drop the character of viscosity or capsule formation as differential for *B. plymouthensis*.

In general, what we are in the habit of regarding as important biological characters are not subject to sudden or spontaneous variation; i. e., the power of liquefying gelatin, of producing gas, or of coagulating milk, does not appear or disappear abruptly with no apparent cause. As has been observed in varieties appearing in the same culture of *B. coli*¹⁾, the variants are chiefly due to a morphological change, such as the production of more or less of the capsular substance upon which often depends the configuration of surface colonies, or to change in an easily disturbed physiological character such as excretion of pigment.

1) Smith, T., and Reagh, A. L. The agglutination affinities of related bacteria parasitic in different hosts. (Journ. of Med. Research, Vol. IX. 1903, p. 270.)

3. Range of normal variation.

a) Growth and pigment on ordinary culture media.

Morphology.

All the cultures of the *Prodigiosus* group, except, *B. kiliensis* and *B. ruber miquel*, are small, actively motile bacilli. *B. kiliensis* is distinctly larger than *B. prodigiosus*, while *B. ruber miquel* is larger still and non-motile. None have spores. A gelatinous capsule is often present in *B. prodigiosus* and *B. ruber plymouthensis*. All of these organisms tend to be somewhat larger on solid media, especially on potato.

B. prodigiosus and *B. kiliensis* showed peritrichial flagella; the others were not examined for flagella.

Cultural features.

Gelatin. Plate colonies vary but slightly beyond the differences in appearance due to variation in the viscosity of the medium. In general the colonies are all like those described for *B. prodigiosus*, with slight variations as to time and manner in which pigment and liquefaction appear. *B. ruber miquel* only, does not liquefy gelatin. The same variations in time and degree of liquefaction are seen in gelatin tube cultures, even in parallel inoculations made at the same time, into the same lot of gelatine and from the same culture. This is, however, not an unusual variation in a series of tubes inoculated from one colony, and is probably due in part, as shown by Whipple¹), to slight physical disturbances in the action of the proteolytic enzyme.

Agar. Variation in the agar colonies, principally in contour and in coloration, is due to the same causes as in the gelatin colonies. Proteus-like colonies often occur, i. e., in *B. ruber indicus*, *B. rutilus*, *B. fuchsinus*, and rarely in *B. kiliensis*, but the usual *Prodigiosus* form is round. Pigment usually appears in granular masses throughout the colony, but often the colonies show fine concentric rings of pigmentation, with darker or lighter centres. My attempts to make accurate colored reproductions of these proved futile, since they are quite inconstant. One plate of *B. prodigiosus* IV may be normally and uniformly pigmented; on another all colonies may become red from the edges inward, leaving at first a white centre; other cultures may have violet red centres and white edges. It is noticeable in such variations that they do not occur on the same plate, i. e., they are regular responsive, and not sport variations.

Potato. The tendency to consider potato as a rejuvenating medium for *B. prodigiosus* is borne out by the vigorous growth and pigmentation of *B. prodigiosus* I—VIII on this medium, cf. also *B. kiliensis*, *rutilus*, *amyloruber*, and *ruber miquel*. For *B. ruber indicus*, *B. plymouthensis*, and *B. miniaceus*, however, potato cultures were unsatisfactory for chromogenesis.

Bouillon. Dense turbidity is always produced in bouillon by

1) Whipple, G. C., On the physical properties of gelatine, etc. (Technology Quarterly. Vol. XV. 1903. p. 159.)

all of these cultures, but great variation is shown in the amount of pigment elaborated and in the formation of pellicle. The amount of sugar present in the medium has an effect upon pigment production, as noted in the descriptions of the separate cultures; the reaction of the bouillon is also a feature, more pigment being produced in bouillon of slightly acid reaction. Usually in sugar free neutral bouillon *B. prodigiosus* I—IV, VI, VII, and *B. ruber* miquel show slight coloration of the liquid and a red surface ring, but little true pellicle; *B. kiliensis* and *B. prodigiosus* V give thick orange red surface membranes, while *B. plymouthensis*, *B. miniaceus*, and *B. prodigiosus* VIII show color only in a pink or violet surface ring, and *B. ruber indicus* usually lacks pigment entirely in ordinary meat bouillon but produces it in abundance in a peptone solution. On the other hand *B. rutilus* and *B. amylo-ruber* color the entire liquid deep red, in observing which fact we may remember their recent isolation.

Milk. All except *B. amylo-ruber* and *B. ruber* miquel acidify milk in 24 hours and coagulate it in from 24 (*B. rutilus*) to 72 hours at room temperature. Some of the cultures show peptonization of the casein. *B. amylo-ruber* does not coagulate, but precipitates the casein, while *B. ruber* miquel produces no change in milk except that of red pigmentation. Almost no variation is seen in these reactions in milk.

Gas production. The appended table shows that great variation is evinced in this respect, not only in the group, but in the same organism at different times, with different stocks of bouillon. The table gives only the limits of numerous determinations made with neutral 1.5 % dextrose bouillon.

Table II.

	Dextrose		Lactose		Saccharose	
	Per cent. of Gas	Per cent. of CO ₂	Per cent. of Gas	Per cent. of CO ₂	Per cent. of Gas	Per cent. of CO ₂
<i>B. prodigiosus</i> I, II, III	0—34.5	100	—	—	—	—
" " IV	10	—	—	—	10—20	—
" " V	70	55	32	20	70	50
" " VI	40	98	—	—	40	98
" " VII	10—20	—	—	—	10—20	—
" " VIII	—	—	—	—	—	—
<i>B. ruber indicus</i> I, II	30—70	100	—	—	20—25	100
<i>B. kiliensis</i> I, II	30—40	26—28	27	21	30	20
<i>B. plymouthensis</i>	70—78	70—78	38—42	70—72	25—30	70—75
<i>B. miniaceus</i> I, II, III	40—60	40—65	36—40	35—57	30—53	20—70
<i>B. rutilus</i> (n. sp.)	28—91	100—65	—	—	6—88	100—60
<i>B. ruber</i> miquel	34—46	77—79	—	—	—	—
<i>B. amylo-ruber</i> (n. sp.) and <i>B. fuchsinus</i>	—	—	—	—	—	—

It is to be remarked that, except in the case of *B. rutilus*, the relation of CO₂ to the total gas produced remains fairly constant for each organism. *B. rutilus* produced 60—65 % CO₂ at first, but with gradual loss, after isolation, of the power to produce

a large amount of gas, it seemed also to lose the power to form anything but CO_2 . *B. prodigiosus* I usually failed to produce gas in 1% dextrose, 1.5–2% being more favorable.

Oxygen and temperature relations. All of this group are facultative anaerobes, but grow without pigment in the absence of oxygen. Only *B. kiliensis* and *B. ruber indicus* produce pigment at 37° C, although all are able to grow at that temperature.

Indol production, nitrate reduction, odor. No indol is formed by the members of this group. Nitrate is reduced to nitrite in each case and often to free gas. The trimethylamine odor is often present in cultures of the *Prodigiosus* group, and a strong fecal odor is characteristic of *B. plymouthensis*, *B. prodigiosus* V, and VIII.

B. ruber indicus only is said to be pathogenic for laboratory animals. 2 ccm of a 48 hour bouillon culture inoculated intraperitoneally killed a mouse in 48 hours. Unfortunately I was unable to make an autopsy. 20 ccm of a 48 hour agar suspension failed to produce any effect upon a guinea pig.¹⁾

b) Growth and pigment on special solid media.

The earlier investigators of red chromogenic bacteria, Ehrenberg (26), Fresenius (27), and Cohn (30), concerned themselves chiefly with the systematic position of *B. prodigiosus*; Erdmann (28), and Schroeter (29) worked with the chemical nature of the pigment; Schottelius (35) was the first to pursue ecological studies upon the pigment production, without, however, much attention to the composition of the cultural media. His conclusions as to the conditions necessary for pigmentation were 1) a sufficient supply of atmospheric air, 2) a suitable temperature. Wasserzug (37) experimented upon the effect of alkaline and of acid media, obtaining colorless races in alkaline bouillon. Kübler (38) repeated Wasserzug's procedure, but contradicted him and confirmed Schottelius in asserting the non-permanency of white cultures obtained by high temperature and alkaline media.

The next important paper on the subject was that of Galeotti (15), who studied eight chromogenic organisms, among them *B. prodigiosus*, Lustig's "red bacillus", and *B. lactis erythrogenes*. He found that *B. prodigiosus* gave less pigment in liquid media than in solid, but that this was not due, as Wasserzug had thought, to lack of oxygen, since an atmosphere of pure oxygen produced no better chromogenesis. He decreased the amount of peptone in the agar, and inferred that a scarcity of proteid did not prevent pigment production. *B. prodigiosus* was the only organism of his series in which pigment production could be impeded

1) Subcutaneous inoculation of 2 ccm. 48 hr. agar slant culture, suspended in 5ccm 0.85% NaCl solution, causes illness in rabbits. A large abscess forms at the site of inoculation, from which a vigorous and pigmentforming culture of *B. ruber indicus* was isolated at the end of two weeks. Abscesses are also formed by *B. prodigiosus* I and VII, *B. rutilus* (n. sp.), and *B. amylo-ruber* (n. sp.). Further investigations upon the pathogenicity as well as upon the agglutinative properties of these organisms are in progress.

by a high temperature without interfering with the luxuriance of development. White light had a limiting, red light very little effect upon the pigment; lack of oxygen and also pure oxygen were both detrimental¹⁾. Galeotti thus concluded 1) that the power of chromogenesis in bacteria is not connected indissolubly with the life of those bacteria; such microorganisms may be able to live without producing their characteristic pigment. 2) that the conditions of life which affect the chromogenic power are generally those which have an unfavorable influence upon the bacteria themselves in all their functions. 3) that, given conditions unfavorable to the production of pigment by any special chromogenic microorganism, that organism will, in a longer or shorter period of time, reacquire the power of pigment production by adapting itself to the unfavorable conditions.

Galeotti's first conclusion is supported by most investigators of bacterial chromogenesis, and by all the observations which are here cited as to the ease with which the power of pigment production is lost by some microorganisms. His second and third generalizations are, however, debatable.

Noesske (18) says, speaking of *B. pyocyaneus* and *B. prodigiosus*, — "Nicht trotz, sondern infolge zu üppiger Vegetationsbedingungen sistiert manchmal die Farbstoffbildung auf unserer gebräuchlichen Bouillon." Noesske is supported by Woolley (21), who concludes that *B. pyocyaneus*, *B. janthinus*, and *B. prodigiosus* show better development but less pigment in sugar media as compared with sugar free media; pigment is produced more easily in 1 % than in 2 % sugar media, with the exception of *B. prodigiosus*, which is alike in both cases, but better in glucose than in lactose or saccharose.

The presence of sugar in nutritive media was, according to Wasserzug, detrimental to the pigment production of *B. prodigiosus*; but Laurent (57) found that the influence of sugar could be counteracted by the addition of alkali, i. e., that the injurious effect was only indirect, through the acid formed from the sugar by the bacteria.

Although no very definite conclusions can be drawn from media containing so many unknown elements as our ordinary bouillon or agar, a few preliminary experiments were made with agar as to the effect following on the elimination of some of its constituents. Cultures which had been 4 months on neutral sugar free agar were transferred to similar fresh agar slant tubes. After rejuvenation by the bouillon, gelatin, and agar plate method, sugar free and 1 %

1) cf. Pfeffer, W. Ber. der Kgl. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Leipzig, math.-phys. Klasse. 1896, p. 379, ref. Baumgartens Jahresb. 1896, p. 705. „Farbstoffbildende Bakterien vermögen den Sauerstoff locker zu binden (ähnlich wie das Hämoglobin) und ihn im sauerstofffreien Raum wieder abzugeben. Der Träger dieser Erscheinung ist der Farbstoff, der die gleiche Wirkung auch isoliert im alkoholischen Extrakt zeigt, während bei farblosen Bakterien ein Gleiches noch nie beobachtet ist. Die Farbstoffbildung, die bisher mehr als eine Luxusproduktion erscheint, erscheint hiernach vielleicht in einem für die Art ungleich zweckmässigeren Sinne, indem sie vielleicht die Bedeutung hat, dem betr. Bakterium eine stets bereite Sauerstoffreserve zu sichern.“

dextrose agar slant tubes were inoculated from the same colonies, with the following results: —

Table III.

	5 days, Sugar-free neutral agar, after 4 months on neutr. agar		Rejuvenated							
			24 hrs.		24 hrs.		5 days		5 days	
			Sugar-free agar		Glucose agar		Sugar-free agar		Glucose agar	
	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.
<i>B. prodigiosus</i> I	lux.	red	lux.	deep pink	lux.	pink, trace	lux.	red	lux.	red and white
<i>B. ruber indicus</i> I	"	pink	"	"	"	—	"	pink, trace	"	pink and white
<i>B. " "</i> II	"	"	"	"	"	—	"	pink, trace	"	pink and white
<i>B. ruber balticus</i>	"	orange red	"	"	"	pink, trace	"	orange red	"	red at top ¹⁾
<i>B. ruber plymouth.</i>	"	pink	"	pink trace	"	red, luster,	thin	red, trace	"	violet red, lustre
<i>B. ruber miquel</i>	"	red	thin	orange red	"	pink	"	orange red	"	violet red
<i>B. rutilus</i> (n. sp.)	"	pink	"	red	"	"	"	red	"	red and white
<i>B. amylo-ruber</i> (n. sp.)	wrink- led	violet red	"	deep pink	"	—	"	violet red	"	dark violet red
<i>B. No. 18</i>	lux.	pink	"	—	"	red, luster	"	—	"	red, luster
<i>B. kiliensis</i>	"	red, trace	"	—	"	red, trace	fair	—	"	red, trace
<i>B. miniaceus</i>	"	"	"	pink trace	"	red, luster	thin	pink, trace	"	red, luster

A comparison of the five-day sugar-free agar growth shows *B. plymouthensis* and *B. rutilus* to have been apparently greatly benefited by the rejuvenating process, *B. kiliensis* and *B. No. 18* (*B. plymouthensis* II) as adversely affected, and the others as not affected at all. This may be due in part to the fact that no particular attempt was made to wait for colonies showing the highest pigmentation, but only to inoculate both tubes from the same colony.

When we compare the results of 24 hours for the two agars, we find some interesting differences; the cultures are divisible at once into two classes. *B. prodigiosus* I, *B. ruber indicus* I and II, *B. ruber balticus*, *B. ruber miquel*, *B. rutilus*, and *B. amylo-ruber*, all show more pigment on sugar free agar. With the exception of *B. ruber miquel*, which was thin on sugar free agar, the development was of about the same degree of luxuriance on all. Three other cultures, *B. plymouthensis*, *B. miniaceus*, and *B. No. 18*, gave a surprising result in comparison with the others, — maximum pigmentation with green luster upon the sugar medium, and very little or none at all upon the sugar free agar. *B. kiliensis*

1) Later, more luxuriant and darker pigment on glucose agar.

is also of interest; it is a degenerate culture of feeble pigmentation, and still shows a lingering tendency to return to normal if opportunity affords, i. e., upon a fresh transfer from an old culture, or upon transference to a new (here a sugar) medium.

The five day growth presents the same differences, though less distinctly. The mosaic appearance of *B. ruber indicus* and *B. rutilus* is a beautiful expression of the existence of some pigment-producing individuals among the mass of those not producing pigment. This seems to argue that, here on solid media at least, the presence of sugar has the effect not of modifying the pigment, but of either permitting it unmodified or of inhibiting it. That the acid formed from the sugar is the inhibiting influence may be questioned because of the early appearance of the differentiation. The effect of acid directly upon the pigment may explain the more violet red color of *B. ruber miquel* after five days, and the darker color of *B. amylo-ruber*. The late and luxuriant appearance of pigment in *B. ruber balticus* on sugar agar is a peculiar result entirely inexplicable on the acid theory. It is to be noted that the three cultures which produce early luxuriant pigment on sugar agar are among those, of the whole series, which produce the most active fermentation of sugars in the fermentation tube.

It seemed possible to obtain some light upon the question of growth-luxuriance and pigment-luxuriance by eliminating the bouillon from the ordinary agar medium. Accordingly a series was grown upon agar 1.5 %, peptone 1 %, and water. This medium was first tried of different reactions, 1.5 % acid, neutral, and 1.5 % alkaline to phenolphthalein. The same medium, neutral, was used with the addition severally of 1 % pure dextrose, lactose, and saccharose. Two differences between the "meat-free" medium and the ordinary nutrient agar were noticeable, though hardly measurable. The growth is more limited, i. e., less spreading and "massy", and the pigment is in general more intense in the former. Some of this depends, without doubt, upon the vigor of the culture, a particularly vigorous strain being able to overcome slight differences in the media, expressed, in feeble strains like *B. kiliensis*, by a series showing distinct gradation.

(See Table IV p. 474.)

This 48 hour table brings out several points:

- 1) The tendency to violet red pigment on the more acid, to orange red on the more alkaline media.
- 2) The similarity of pigment color on dextrose and saccharose agar to that on sugar free agar of acid reaction. That is, acid is probably formed from assimilation of these two sugars.
- 3) The similarity of pigment color on lactose agar to that formed on sugar free neutral agar; i. e., lactose is probably not easily assimilated.

This and the last named point seem to afford evidence of the activity of sucrase but not of lactase.

- 4) The similarity of *B. prodigiosus* I, II, III, and VIII; and of *B. plymouthisensis* and *B. No. 18* (*B. plymouthisensis* II).

Table IV.

48 hours.	Agar 1,5 %, Peptone 1 %						Agar 1,5 %, Peptone 1 %					
	1,5 % + Gr.	Pigm.	O	Gr.	Pigm.	1,5 % —	1 % Dex. Gr.	Pigm.	1 % Lact. Gr.	Pigm.	1 % Sacch. Gr.	Pigm.
B. prod. I	++	violet red +	+	violet red +	sl.	—	+	violet red +	+	red +	+	violet red +
B. „ II	++	violet red +	+	violet red +	sl.	—	++	violet red +	+	orange red +	+	violet red +
B. „ III	++	violet red +	+	violet red +	sl.	—	++	violet red +	+	orange red +	+	violet red +
B. „ IV	++	red ++	++	ver- milion ++	++	ver- milion +	++	dark red ++ luster	++	orange red ++ luster	++	dark red ++ luster
B. „ V	++	red ++	+	red +	sl.	sl.	+	violet red +	+	orange red +	+	violet red +
B. „ VI	++	violet red ++ luster	+	red +	+	red +	+	violet red +	++	orange red ++	++	dark violet ++ red lustre
B. „ VII	++	ver- milion ++	++	ver- milion ++	++	ver- milion ++	++	violet red ++ lustre	++	orange red ++	++	violet red ++ lustre
B. „ VIII	+	violet red +	+	violet red +	+	violet red +	+	violet +	+	violet +	+	violet +
B. r. ind. I	+	orange red dry	++	orange red dry	+	orange red dry	+	dark red dry	+	orange red dry	+	orange red dry
B. „ „ II	++	orange red ++ luster	+	orange red +	+	pale orange red	+	dark red ++	+	orange red ++	+	orange red ++
B. r. balt.	++	orange red ++	+	orange red +	+	—	++	violet red ++ luster	+	orange red +	++	dark red ++
B. r. miquel	+	red +	sl.	—	+	—	+	dark red ++	+	—	+	dark red +
B. r. ply.	sl.	—	sl.	—	sl.	—	++	dark red ++ luster	+	pink	++	dark red ++ luster
B. rutilus	++	violet red ++	+	red +	sl.	orange red +	+	—	+	orange red +	+	violet red +
B. amylo- ruber	++	violet red ++	++	red +	+	orange red sl.	sl.	pale violet	+	violet red +	++	violet red ++
B. No. 18	++	—	+	—	+	—	++	dots red	++	—	++	dots red
B. kiliensis	+	deep pink +	+	pale pink +	+	—	++	dark red ++	++	—	++	pink

5) The orange red color of *B. ruber indicus* I and II on acid agar is probably due to alkali-production. Query: — Is the large amount of acid formed by *B. ruber indicus* in bouillon and on ordinary meat agar, as evinced by its better growth on alkaline meat agar, a result of the meat albumins?

6) The range of color in *B. amylo-ruber*, as follows:

	Red	Orange	Blue
1,5 % acid	87	10	3
Saccharose	70	20	10
Dextrose	50	30	20
Neutral and Lactose	65	15	20
1,5 % alkaline	45	55	

7) the inhibition of pigment by dextrose in the case of *B. rutilus*, although the saccharose tube shows evidence of assimilation, i. e., is like 1,5 % acid.

After five days' growth some of these cultures were slightly less characteristic, as would naturally result from the constantly increasing complexity of the metabolic products. For example, *B. prodigiosus* IV had become vermilion on 1,5 % acid agar, no doubt as a result of the alkali produced by the vigorously growing culture. Other of the more slowly developing cultures bore out the results of the first 48 hours, e. g., *B. prodigiosus* I—IV had produced orange red pigment on 1,5 % alkaline agar, and *B. plymouthen-sis* slight violet red color on acid agar. Metallic green luster had appeared for several cultures, noticeably for *B. ruber balticus* on 1,5 % acid agar, and for *B. No. 18* on dextrose and on saccharose agar (i. e., parallel with *B. plymouthen-sis*). Orange red color had changed to red on lactose agar for *B. prodigiosus* V and for *B. rutilus*, but excepting these and the colorless lactose agar cultures of *B. ruber miquel* and *B. No. 18*, the orange tone still held for the series on this medium, i. e., the alkali produced by the bacteria was not neutralized by acid formed from the sugar. It would seem that since *B. ruber balticus*, *B. plymouthen-sis*, and *B. miniaceus* ferment lactose with gas production, these cultures would show a decrease of the orange tone.

Although the relative results arrived at on the above media are of some value, their absolute value is lessened because of the unknown factors present in agar and peptone. Agar itself contains a certain amount of carbohydrate, galactose (Bauer, Jour. Prakt. Chemie, B. XXX. p. 367), which is probably assimilable by the organisms. A further reduction of the medium, by leaving out the peptone, resulted in very feeble white growth in five days. Three cultures only showed a trace of pigment, — *B. ruber indicus* II, *B. rutilus*, and *B. prodigiosus* VII. The last named showed a green iridescence on the thin pink layer.

(Schluß folgt.)

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Räbiger, H., Aus dem Jahresbericht des Bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen für 1902. (Milch-Ztg. Jg. XXXII. 1903. N. 49. p. 773—774.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Arthus, Maurice et Gavelle, Jean, Action de fluorure de sodium à 1 p. 100 sur une levure. (Compt. rend. Soc. biol. T. LV. 1903. N. 33. p. 1481—1483. [Réun. biol. Marseille.])

Gordon, M. H., Notiz über die Anwendung des Neutralrots (Rothberger) zur Differenzierung von Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 271—272.)

Langstein, Leo und Mayer, Martin, Versuche von Bakterienzüchtung in einer nativen Mucoidlösung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 270—271.)

Levaditi, C., Méthode pour la coloration des spirilles et des trypanosomes dans le sang. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 34. p. 1505—1506.)

Lubarsch, O., Ueber meine Schnellhärtungs- und Schnelleinbettungsmethode. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXIX. 1903. N. 48. p. 896.)

Moufet, L., Soufre neutre et diazoréaction d'Ehrlich. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 34. p. 1503—1505.)

Nelson, Edward, M., A micrometric correction for minute objects. (Journ. of the R. microsc. soc. 1903. P. 5. p. 579—582. 4 Fig.)

—, An Old Non-achromatic Simple Microscope. (Journ. of the R. microsc. soc. 1903. P. 5. p. 587—589. 6 Fig.)

—, An Early Compound Microscope with a Mirror attached to its Limb. (Journ. of the microsc. soc. 1903. P. 5. p. 590—591. 1 Fig.)

Rousseau, Em., Influence des sels de calcium sur la solidification de la gélatine stérilisée à + 120°. (Journ. Pharm. Chim. T. XVIII. 1903. p. 193—199.)

Stein, Arthur, Ueber Schnellhärtung und Schnelleinbettung. (Dtsche med. Wchnsch. Jg. XXIX. 1903. N. 44. p. 806.)

Klingmüller, Viktor und Veiel, Fritz, Sublamin als Fixierungsmittel. (Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XIV. 1903. N. 20. p. 842—844.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Adler, Oskar, Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1903. N. 6/7. p. 215—219.)

Bau, Arminius, Das Enzym Melibiase, sowie vergleichende Studien über Maltase, Invertase und Zymase. Nachtrag. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 49. p. 596.)

Baer, W., Beobachtungen über *Lyda hypotrophica* Htg., *Nematus abietinus* Chr. und *Grapholitha tedella* Cl. (Tharander forstl. Jahrb. Bd. LIII. 1903. Hälfte 2. p. 171—208. 3 Fig.)

Bezenberger, Ernst, Ueber Infusorien aus asiatischen Anuren. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1903. Heft 2. p. 138—174. 1 Taf. u. 23 Fig.)

Centanni, Eugenio, Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. (Forts.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 239—246.)

- Chlopin, G. W. und Tammann, G.**, Ueber den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 2. p. 171—204.)
- Christensen, Harald B.**, Zwei neue fluoreszierende Denitrifikationsbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 190—194. 2 Taf.)
- Dubourg, E.**, Recherches sur l' *heliomycelium fuliginosum*. (Mém. de la soc. d. sc. phys. et nat. de Bordeaux. Sér. 6. T. III. 1903. p. 263—272.)
- van Hest, J. J.**, Beiträge zur Kenntnis wilder Hefen. 1. *Saccharomyces pinophthorus melodus*. — 2. *Saccharomyces pinophthorus enervans*. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 48. p. 808—814.)
- Klein, E. und Gordon, Mervyn**, Ueber die Herkunft einer Rosahefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 138—139.)
- Lerat, R.**, Oxydation de la vanilline par le ferment oxydant des champignons. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 32. p. 1325—1327.)
- Lingard, Alfred**, The giant *Trypanosoma* discovered in the blood of bovines. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 232—238. 1 Taf.)
- Maire, R.**, La formation des asques chez les pézizes et l'évolution nucléaire des Ascomycètes. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 32. p. 1401—1402. [Réun. biol. Nancy.])
- Mesinescu, D.**, Ueber ein Eiterspirillum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 201—202. 4 Fig.)
- Noelli, Alberto**, Revisione delle forme del genere *Steganosporum* Corda. (Malpighia. Anno XVII. 1903. Fasc. 9. p. 412—418. 6 Fig.)
- Omeliński, W.**, Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 177—189. 1 Taf.)
- Plehn, Marianne**, *Trypanoplasma cyprini* n. sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1903. Heft 2. p. 175—180. 1 Taf.)
- Reinke, J.**, Symbiose von *Volvox* und *Azotobacter*. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXI. 1903. Heft 8. p. 481—483.)
- Richet, Charles**, Les cultures autogènes. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 33. p. 1407—1408.)
- Rosenthal, Georges**, Méthode de transformation progressive des microbes anaérobies stricts en microbes aérobie. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 31. p. 1292—1294.)
- , Sur le saprophytisme du coccobacille du Pfeiffer ou coccobacille hémophile, à propos de la note de Latapie. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 34. p. 1500—1501.)
- Sandberg, Georg**, Ein Beitrag zur Bakteriologie der milchsäuren Gärung im Magen mit besonderer Berücksichtigung der „langen“ Bacillen. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. LI. 1903. Heft 1/2. p. 80—94. 1 Taf.)
- Schittenhelm, A. und Schröter, E.**, Ueber die Spaltung der Hefenukleinsäure durch Bakterien. [II. u. III. Mitt.] (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XL. 1903. Heft 1/2. p. 62—80.)
- , Gasbildung und Gasatmung von Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 146—150. 1 Fig.)
- Schönfeld**, Nochmals die Infektion mit wilden Hefen durch das Holz der Gärbottiche. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 49. p. 585—586.)
- Simond, P. L.**, Note sur un sporozoaire du genre *Nosema*, parasite du *Stegomyia fasciata*. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 32. p. 1335—1337. 9 Fig.)
- Stoklasa, Julius**, Beiträge zur Kenntnis der aus der Zelle höher organisierter Tiere isolierten, gärungserregenden Enzyme. (Centralbl. f. Physiol. Bd. XVII. 1903. N. 17. p. 465—477.)
- Stoklasa, Julius und Czerny, F.**, Beiträge zur Kenntnis der aus der Zelle höherer organisierter Tiere isolierten gärungserregenden Enzyme. (Ber. d. Dtschn. chem. Ges. 1903. N. 16. p. 4059—4069.)
- Uhlmann, Otto**, Der Bakteriengehalt des Zitzenkanals (Ductus papillaris) bei der Kuh, der Ziege und dem Schafe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 224—233. 1 Taf.)
- Vigener, Josef**, Ueber dreikantige Bandwürmer aus der Familie der Taniiden. (Jahrb. d. Nassauischen Ver. f. Naturk. Jg. LVI. 1903. p. 112—177. M. Fig.)

- Weis, Fr.**, Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste. [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 48. p. 814—818. 3 Taf.)
- Wolff, J. und Fernbach, A.**, Ueber die Amylokoagulase, ein die Stärke gerinnendes Enzym. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 49. p. 594—595.)
- Zederbauer, E.**, Myxobacteriaceae, eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien. (Sitzungsber. K. Akad. Wiss. Wien 1903.) Wien (Gerolds Sohn) 36 p. 2 Taf. gr. 8°. 1 M.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Abba, Fr.**, Ueber den Mechanismus der biologischen Selbstreinigung des Eises. Experimentelle Untersuchungen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 2. p. 285—297.)
- Calmette, A.**, L'épuration biologique des eaux d'égout. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année I. 1903. N. 18. p. 673—679.)
- , L'épuration biologique des eaux d'égout. [Suite.] (Bull. de l'inst. Pasteur. Année I. 1903. N. 19. p. 713—718.)
- Fuller, George W.**, Present status of the purification of public water supplies. (Journ. American med. assoc. Vol. XLI. 1903. N. 18. p. 1084—1090.)
- Ruata, Guido Q.**, Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 220—224.)
- Stoltzmann, G.**, Wynik badań chemiczno-bakteryologicznych powietrza sal szpitalnych. (Recherches chimiques et bactériologiques de l'air dans les salles des hôpitaux. Zdrowie, Warszawa Mies. 19. 1903. p. 133—145.)
- Thiry, G.**, De la signification des bacilles violets dans les eaux d'alimentation. Paris (Impr. nationale) 1903. 8 p. 8°. (Extr. Compt. rend. Congrès d. soc. savantes en 1902.)

Fleisch.

- Felisch**, Die Trichinenschau und ihre Organisation nach den Preuss. Ausführungsbestimmungen vom 20. März 1903, betreffend die Schlachtvieh- und Fleischschau, einschließlich der Trichinenschau. (Ztschr. f. d. ges. Fleischschau. Jg. I. 1903. N. 2. p. 15—16; N. 3. p. 29—31.)
- Fleischschau- und Trichinenschau-Kalender für das Jahr 1903. Jg. I. Hrsg. von F. Meyer. Köln a. Rh. 1903. 192 p. 8°.
- Hönnicke**, Ueber Fleischsterilisation. [Schluß.] (Ztschr. f. Fleisch- und Milchhyg. Jg. XIV. 1903. Heft 3. p. 77—85.)

Milch, Molkerei.

- Friedjung, Josef K. und Hecht, Adolf Frans**, Ueber Katalyse und Fermentwirkungen der Milch. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXXVII. 1903. Heft 5/6. p. 346—405.)
- Knoch, C.**, Das Kondensieren der Milch. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVII. 1903. N. 49. p. 1073—1075. 3 Fig.)
- Lux, Arthur**, Ueber den Gehalt der frisch gemolkten Milch an Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 195—201.)
- Sewerin, S. A.**, Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 202—206.)
- Trolli-Petersson, Gerda**, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 207—215. 3 Taf.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

- Lewicki, Tadeusz**, Rozwój drobnoustrojów w fabrykacji cukru i sposób przeciwdziałania. (Entwicklung des Mikroorganismen bei der Fabrikation des Zuckers). (Chem. pols. Warszawa. Bd. III. 1903. p. 157—158.)

Wein, Weinbereitung.

- Ergebnisse der Weinstatistik für 1900 und 1901. Berichte der beteiligten Untersuchungsstellen, gesammelt im Kais. Gesundheitsamte. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XX. 1903. p. 155—242.)
- Delle, Ed.**, Les vins incomplètement fermentés et leur degré alcoolique. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 95. p. 379—380.)
- J. D.**, La distillation des vins incomplètement fermentés. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 94. p. 376.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Jørgensen, Axel**, Untersuchungen über Formaldehyddesinfektion nach der Breslauer Methode, speziell Desinfektion von Uniformen betreffend. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLV. 1903. Heft 2. p. 237—284.)
- Kausch**, Die letzten Neuerungen auf dem Gebiet der Desinfektion und Sterilisation. [Zusammenfassende Uebersicht. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIV. 1903. N. 6/7. p. 182—191. 8 Fig.)
- Kupsis, J.**, Die Desinfektionsmittel aus der russischen Naphtha. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 2. p. 263—270.)
- Sammlung von Gutachten über Flußverunreinigung. [Forts.] XV. Weiteres Gutachten betreffend die Beseitigung der Kanalabwässer der Residenzstadt Schwerin. 1 Taf. XVI. Gutachten des Reichsgesundheitsrates über die Einleitung des Mainzer Kanalwassers einschließlich der Fäkalien in den Rhein. 2 Taf. XVII. Gutachten des Reichsgesundheitsrates über die Einleitung der Mannheimer Kanalwässer in den Rhein. 1 Taf. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XX. 1903. p. 243—386.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.]

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Berlese, A.**, Neue Wege für die landwirtschaftliche Entomologie. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 244—245. [7. internat. landw. Kongreß Rom].)
- Bondarzew, A. S.** und **Bucholts, F.**, Die Pilzparasiten des Sommers 1902 in der Umgebung von Riga. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 217—220.)
- Cséh, A., Jablonowski, J., Vermorel, V.**, Die Bekämpfung der Traubenwickler. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 247—249.)
- Del Guercio, G.**, Versuche zur gleichzeitigen Bekämpfung des Blütenstechers, der Schildläuse, Mose und Flechten an Apfel- und Birnbäumen. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 245—247. [7. internat. landw. Kongreß Rom].)
- Hennings, P.**, Die an Baumstämmen und Holz auftretenden teilweise parasitären heimischen Blätterschwämme. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 198—205.)
- de Istvanffi, Gy.**, Mikrobiologische Untersuchungen über einige Krankheiten der Obetbäume und der Weinrebe. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 241—243. [7. internat. landw. Kongreß Rom].)
- Iwanoff, K. S.**, Phytopathologisches aus Transkaukasien. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 221—222.)
- Kindt, Ludwig**, Die Kultur des Kakaobaumes und seine Schädlinge. Hamburg (Boysen) 1904. XV, 157 p. M. Abb. gr. 8°. 4,50 M.
- Ludwig, F.**, Zwei neue Pflanzenschädlinge unserer Gewächshäuser und Gärten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 210—213. [Japan. Heuschrecken, Amsel].)
- Marchal, Em.**, Die im Jahre 1902 in Belgien beobachteten Pilzkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 216—217.)
- , Immunisierung der Pflanzen gegen parasitäre Pilze durch Absorption pilztötender

- Stoffe. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 243—244. [7. internat. landw. Kongreß Rom.])
- Mokrzecki, S. A.**, Ueber die Anwendung des Chlorbaryum gegen schädliche Insekten in Gärten und auf Feldern. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 209—210.)
- Osterwalder, A.**, Gloeosporium-Fäule bei Kirschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 6/7. p. 235—226. 1 Taf.)
- Ravas, L.**, Les effets de la greffe. (Rapp. au congrès internat. d'agricult. de Rome 1903.) Montpellier (Coulet et Fils) 1903. 28 p. 8°.
- Ritzema Bos**, Drei bis jetzt unbekannte, von *Tylenchus devastatrix* verursachte Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 193—198. 2 Fig.)
- Salmon, Ernest S.**, Ueber die zunehmende Ausbreitung des amerikanischen Stachelbeer-Mehltaus (*Sphaerotheca mors-uvae* [Schwein.], Berk. u. Curt.) in Europa. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 205—209. 1 Fig.)
- Schults-Soest**, Zur Frage der Unkrautvertilgung. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 4. p. 213—214.)
- Volkart, A.**, *Taphrina rhaetica* n. sp. und *Mycosphaerella Aronici* (Fuck.) (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXI. 1903. Heft 8. p. 477—481. 1 Taf.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Hefferan, Mary**, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Forts.), p. 456.
- Modella, Antonio**, Einiges über die Biologie der Käseanaeroben, p. 452.
- Sewerin, S. A.**, Gips als ammoniakbindende Substanz bei der Ver-

rottung des Stallmistes. (Schluß), p. 442.

- Stüchting, H.**, Kritische Studien über Knöllchenbakterien. (Fortsetzung), p. 417.

Neue Litteratur, p. 476.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Welgmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3^l.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XI. Band.

Jena, den 19. Februar 1904.

No. 16/18.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 60 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung¹⁾.

Von Prof. Dr. F. Vejdovský in Prag.

Mit 1 Tafel.

Vorliegende Bemerkungen sind als eine Fortsetzung bzw. Vervollständigung meiner ersten Mitteilung vom Jahre 1900²⁾ zu betrachten, in welcher ich zuerst auf die Beständigkeit der im Zentrum der Bakterienzelle liegenden, mit Karmin und Hämatoxylin

1) Vorgetragen in der königl. böhm. Gesellschaft der Wissenschaften den 23. Oktober 1903.

2) Vejdovský, F., Ueber den Bau und die Entwicklung der Bakterien. (Centralbl. für Bakteriologie und Parasitenkunde. Abt. II. Bd. VI. 1900. Sitzungsberichte d. königl. böhm. Gesellsch. d. Wissensch. 1900.)

intensiv sich färbenden und als Kerne gedeuteten Körperchen hingewiesen habe. Seit dieser Zeit sind von einigen Seiten mehr oder weniger verlässliche Angaben mitgeteilt worden, nach welchen die Bakterien als echte, mit Kernen versehene Zellen aufgefaßt werden. Obwohl nun E. Gotschlich¹⁾ in seiner ausgezeichneten Uebersicht über die allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Bakterien auf Grund der diesbezüglichen Angaben die Frage, ob die Bakterien echte kernführende Zellen vorstellen, nur im bejahenden Sinne entscheiden zu müssen glaubt, so fehlt es andererseits nicht an solchen Mitteilungen, deren Verff. teils die Richtigkeit der angeführten Deutungen bezweifeln, teils die Existenz der als Kerne aufgefaßten Körperchen in Abrede stellen.

Es liegt nicht in meiner Absicht, die in dem letzten Sinne lautenden Angaben zu bekämpfen oder dieselben speziell anzuführen; ich bemerke bloß, daß es auch einem so bewährten Forscher, wie F. Schaudinn, nicht gelang, in zwei sehr eigentümlichen Bacillusarten die Kerne nachzuweisen, wobei ich allerdings die Bemerkung anknüpfen muß, daß seine Untersuchungsmethoden von den meinigen ganz verschieden waren, und wohl für die Entscheidung der uns beschäftigenden Frage, meiner Ansicht, nach nicht zweckmäßig gewählt wurden.

Wenn ich ferner von den Angaben Arth. Meyers und seiner Schule über die Existenz der Kerne und deren Aequivalente in den Bakterienzellen derzeit absehe, so muß ich auf die gleichzeitig mit meiner oben erwähnten Arbeit erschienenen Untersuchungen Nakanishis hinweisen, in welchen die Bakterien überhaupt als kernführende Zellen gedeutet werden. Die von dem genannten Beobachter untersuchten Jugendstadien erschienen als kurze, einkernige Zellen; in den alternden Zellen trat dagegen die „chromatische Substanz“ ziemlich reichlich hervor, doch war es unmöglich, eine schärfere Umgrenzung derselben gegen das Cytoplasma zu erkennen, und dies wahrscheinlich nur aus dem Grunde, weil die von Nakanishi untersuchten Arten insgesamt kleine pathogene Formen waren, in denen auch bei den stärksten Vergrößerungen die Gestaltsverhältnisse ziemlich schwierig zu bestimmen sind. Es bleibt daher nach Gotschlich immer die Frage offen, „ob die als Kerne angesprochenen Gebilde wirklich den Kernen höherer Zellen, oder nicht vielmehr etwa den Kernkörperchen, Chromosomen etc. entsprechen“.

Angesichts dieser oder ähnlich lautender Einwände, ferner im Mangel an Tatsachenmateriale, welches sich auf größere mit unzweifelhaften Kernen versehene Bakterienarten stützen würde, und trotzdem ich schon in meiner ersten Arbeit echte Kerngebilde in dem großen Bakterium aus Garschina-Gammarus nachgewiesen habe, glaube ich zum unzweideutigen Beweise der Kernnatur der Bakterienzelle nachfolgendes postulieren zu müssen:

1) Die Selbständigkeit des Kernes gegenüber dem Cytoplasma im Ruhestadium der Zelle.

2) Die Differenzierung des Kernes in achromatische (Kern-

1) Kollé, W. und Wassermann, A., Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. 1903. p. 44 ff.

membran, Kernsaft etc.) und chromatische Substanz (Chromosomen oder Nukleolen).

3) Ferner ist es notwendig, den Kern in seinen Vorbereitungen zur Teilung, d. h. die Spindelbildung, und schließlich

4) den Teilungsverlauf und deren Folgen festzustellen.

Es ist bisher wegen Mangels an exaktem Tatsachenmateriale nicht versucht worden, diese Fragen zu beantworten, und obwohl ich meine erste Mitteilung in dieser Beziehung für die ausführlichste von den bisher existierenden Beweisen der Selbständigkeit des Kernes dem Cytoplasma gegenüber annehme, so scheint mir doch die Frage diskussionsfähig zu sein, ob jene, mit Karmin und Hämatoxylin intensiv sich färbenden und im Zentrum der Zellen liegenden Gebilde den ganzen Kern, oder nur den inneren, färbbaren Teil desselben vorstellen. Ich bekenne gern, daß zur Entscheidung dieser Frage die angewandten Tinktionsmethoden ebensowenig ausreichend waren, als zum Nachweis der eigentlichen Spindelbildung aus der chromatischen Substanz und den übrigen Kernbestandteilen.

Ich war daher beunruhigt, die fraglichen Kernverhältnisse auf den mit EH-Methode gefärbten Präparaten zu verfolgen, welches Verfahren, wie so oft hervorgehoben wurde, eines der besten der gesamten Mikrotechnik ist und sich auch für die Differenzierung des Bakterienkernes als ausgezeichnet erweist. Zu diesem Zwecke wurden zwei ältere, früher mit Karmin und bleu de Lyon gefärbte, im Laufe der letzten Jahre aber stark ausgeschossene Präparate mit der Heidenhainschen Methode umgefärbt. Die Umfärbung wurde aber erst dann vorgenommen, als ich ein anderes Fadenbakterium erkannt hatte, bei welchem die Strukturverhältnisse des Cytoplasmas, Kernes und dessen Teilung nach der Hämatoxylinfärbung mit solcher Deutlichkeit der feinsten Einzelheiten hervortrat, daß ich bei der ersten Erkenntnis dieser Tatsachen der Ansicht war, es handele sich hier um eine Fadenalge. Eingehende Untersuchung ergab dagegen, daß hier eine Bakterienart vorliegt, in welcher die Kerne (und deren Teilung) wie bei höheren Zellen vorhanden sind und sich nur, wie die Zellen selbst, durch geringere Dimensionen auszeichnen.

Nach diesen Befunden erachtete ich es für meine Pflicht, die früheren Angaben sowohl, was den Kern und dessen Teilung, als was das Cytoplasma und dessen Stoffwechselprodukte anbelangt, zu ergänzen. Bevor ich aber zur weiteren Darstellung dieser Befunde übergehe, muß ich die Bemerkung anknüpfen, daß ich in meiner ersten Arbeit über die systematische Bestimmung des Bakteriums aus dem Garschina-Gammarus mehr vorausgesetzt habe, als in der Wirklichkeit die Bakteriologie lehrt. Diese Disziplin befaßt sich meist mit den in praktischer Beziehung wichtigen Arten, während die in niederen Tieren, sei es parasitisch, sei es symbiotisch lebenden Bakterien, nur recht stiefmütterlich behandelt werden und um so mehr deren Entwicklungszyklus. Zu diesen Arten gehört auch das gewiß beachtenswerte Bakterium aus Gammarus, welches ich daher als *B. gammarum* bezeichne. Bei dieser Gelegenheit hebe ich nochmals hervor, daß diese jedenfalls symbiotische Art nicht in unserem einheimischen Gammarus gefunden

wurde und nur für den Flohkrebs aus dem Garschina-See charakteristisch ist. Auch dieser *Gammarus* ist bisher nicht beschrieben worden, und ich bezeichne ihn daher nach seinem Entdecker als *G. Zschokkei* n. sp.

1. *Bacterium gammari* n. sp.

Mit Eisenhämatoxylin und Lichtgrün gefärbt, zeigt dieses Bakterium dieselben Strukturen des Cytoplasmas, wie ich sie in meiner ersten Arbeit dargestellt habe: Im Zentrum der Zelle erstreckt sich eine breite Zone des zentralen Cytoplasmas, in welchem der Kern liegt, auf der Peripherie der Zelle zieht sich dann ein schmaler Saum des peripherischen Plasmas hin. Vor und hinter dem Zentralplasma erstreckt sich je eine große, aus hyalinem Inhalte bestehende Vakuole, welche meist durch feine Plasmabrücken in zwei oder mehrere kleinere Vakuolen geteilt werden kann, wie ich früher angegeben habe (l. c. p. 582) und auch jetzt veranschauliche. An dieser Stelle muß ich nur noch die Gebilde erwähnen, welche ich früher (p. 582) als „Körnchen“ oder „Tröpfchen“ bezeichnet habe. Dieselben sollen nach meiner damaligen Angabe innerhalb der Vakuolen liegen und „Reste des durch den Alkohol extrahierten Vakuoleninhaltes“ vorstellen. Jetzt kann ich ein sicheres Urteil über die Lage dieser Körperchen aussprechen, zumal ich ganze Querschnittserien durch unser Bakterium verfolgte. So finde ich, daß die Körperchen nicht innerhalb der Vakuolen liegen, sondern sich auf dem peripheren Plasma (Fig. 1 u. 2), oder in den Plasmasträngen zwischen je 2 Vakuolen befinden (Fig. 3). Nach meinen früheren Angaben färben sich die Körperchen in Karmin und Hämatoxylin braun, braunschwarz bis schwarz, sie sind dann überhaupt nicht entfärbbar, und in Eisenhämatoxylin werden sie tief schwarz.

Meiner jetzigen Ansicht nach, stimmen diese Gebilde mit den sogenannten metachromatischen oder Babes-Ernst'schen Körperchen anderer Bakterien überein. Ich veranschauliche ihre Lage sowohl in meiner ersten Arbeit, als auch jetzt in Figg. 1, 3—6, in verschiedener Anzahl und Lage. Ueber ihre physiologische Bedeutung sind viele Ansichten ausgesprochen worden, so z. B. daß sie Kernäquivalente vorstellen, und wenn sie an den Polen der Zelle liegen, werden sie als „Polkörnchen“ bezeichnet etc.

Nach den jetzigen Beobachtungen kann ich eine durch Tatsachen unterstützte Ansicht aussprechen, daß die in Rede stehenden Körperchen Assimilationsprodukte vorstellen, welche die größte Verwandtschaft mit den Fettstoffen haben dürften. Es ist nämlich beachtenswert, daß alle in Cysten eingeschlossenen halbmondförmigen Keime dieser Körperchen entbehren und das gleichmäßig in der ganzen Zelle verteilte Cytoplasma aufweisen, innerhalb dessen im Zentrum der weiter unten näher beschriebene Kern liegt (Fig. 13 a, b, c). Es gibt nämlich in diesen Keimen keine Vakuolen. Erst in den aus den Cysten freigewordenen Keimen, in denen die ersten Spuren der Vakuolenbildung in der Gestalt von kleinen, durchsichtigen und sich keinesfalls färbenden Bläschen erscheinen (Fig. 14 a, b) — erst zu dieser Zeit kommen schwarze, aus dem peripheren Cytoplasma in den Inhalt der Vakuolen ein-

greifende Körnchen zum Vorschein (Fig. 15 *a, b, c*). Zu dieser Zeit beginnt offenbar die Assimilation im Cytoplasma der freigewordenen Keime und schreitet mit dem Wachstum der Bakterien fort. (In der Gruppe Fig. 17 *a, b, c* sind 3 abweichende Formen von jungen Bakterien veranschaulicht, in welchen die Vakuolen nur an einem Pole der sichelförmigen Keime vor dem Kern mit 2—3 Vakuolen angelegt werden; jede Vakuole enthält je ein metachromatisches Körnchen.) Nur diese Entwicklung der Keime zu erwachsenen Stäbchen, damit das Wachstum der Bakterien, erklärt die Bildung und Vermehrung der betreffenden Körnchen und begründet die Auffassung derselben als Produkte der Assimilation.

Der Kern. Die mit Eisenhämatoxylin und Lichtgrün gefärbten Präparate bieten überraschend schöne Bilder dar. Auf den Längsschnitten von *Gammarus Zschokkei* erscheinen Hunderttausende von unseren Bakterien, und bereits bei der Vergrößerung Zeiss C sieht man in jedem Stäbchen je ein schwarzes, im Zentrum der Zelle liegendes, punkt- oder sichelförmiges Körperchen, bezüglich dessen man nicht im Zweifel bleiben kann, ob hier ein Kern oder Kernteil vorliegt.

Starke Vergrößerungen mit homogener Immersion und Kompensationsokularen 4 und 8 zeigen uns die bei Bakterien bisher überhaupt ungeahnten Strukturen, von denen die in Figg. 1, 8, 9 reproduzierten ausgezeichnete Ergänzungen zu den in meiner ersten Mitteilung dargestellten liefern können. Erst durch diese Darstellung wird der definitive Nachweis geliefert, wie man den Kern der Bakterien auffassen soll und keine andere Färbungsmethode oder unvollkommene photographische Reproduktionen ist im stande, die durch die Heidenhainsche Methode hervorgerufenen Bilder auch nur annähernd nachzuahmen, wobei allerdings vorausgesetzt wird, daß das Objekt früher sorgfältig und zweckentsprechend fixiert wurde. Auch die tadellosesten photographischen Aufnahmen erscheinen angesichts dieser tatsächlichen Verhältnisse als bloße Schattenbilder, oder als ein Gemisch von verschiedenen Komponenten der Bakterienzellen, in welchen sowohl das Cytoplasma als auch die Kernbestandteile als dunkle Flecken ohne bestimmte Umrisse der eigentlichen Kerne zum Vorschein kommen.

In fast allen Fällen liegt der Kern im zentralen Cytoplasma, wie ich schon in meiner ersten Arbeit hervorgehoben habe. Nur in Ausnahmefällen (Fig. 6) ist er einem Pol genähert, öfters dagegen kommen Zellen vor, wo der Kern sozusagen auf die Zellwand aufgehängt ist (Fig. 7). In den meisten Fällen ist der Kern kugelig und im Zentrum der Zelle liegend, wie ich auch in meiner ersten Mitteilung beschreibe und abbilde; hier wird keiner äußeren Hülle und nur der eigentlichen chromatischen Substanz zuerst Erwähnung getan, während die achromatischen Bestandteile, wie z. B. die Kernmembran und der Kernsaft, nach den damaligen Methoden ganz unberücksichtigt bleiben.

Aus diesen Gründen verglich ich den Kern unseres Bakteriums mit abweichenden, intensiv sich färbenden Kernen verschiedener

Gewebszellen. Aber auf den jetzigen (mit Heidenhainscher Methode umgefärbten) Präparaten sieht man, daß hier Kerne wie in den gewöhnlichen Zellen vorliegen, in welchen auf der Peripherie eine zwar blasse, aber doch deutliche, grau gefärbte Umhüllung, die sogen. Kernmembran, hervortritt. Innerhalb der Umhüllung erscheint die mehr oder weniger auf eine Seite des Kerns verdrängte chromatische Substanz, welche schon bei schwachen Vergrößerungen in der Gestalt eines schwarzen Kornes erkenntlich ist.

Diese chromatische Substanz ist bald einheitlich, bald in zwei Hälften geteilt (Fig. 10), von denen nicht selten die eine größer als die andere ist, und schließlich erscheint sie feinkörnig, den ganzen Kerninhalt ausfüllend. Es ist kaum notwendig, zu bemerken, daß sich der Kern in diesen Gestaltsverhältnissen in einem Ruhestadium befindet.

Dagegen besitzen zahlreiche Stäbchen desselben Gesichtsfeldes den Kern zu einer Spindel umgewandelt, welche Angabe gewiß überraschend erscheinen muß, zumal es mit den früheren Tinktionsmitteln (Karmin und Hämatoxylin) unmöglich war, einen spindelförmigen Kern sicherzustellen. Mit der Heidenhainschen Methode treten die Kernspindeln überaus deutlich hervor, indem sich die achromatische Kernsubstanz zu grau gefärbten, zugespitzten Kegeln verlängert, in deren Aequator die chromatische Substanz meist ringförmige Figuren bildet (Fig. 3, 5). Nicht selten, namentlich bei guter Beleuchtung, erscheinen auf den Polen der Spindeln dunkle, punktförmige Körperchen (Fig. 5), die man, analog den Spindeln anderer Zellen, leicht für Zentriolen ansehen könnte. Ich vermag mich nicht in diesem Sinne auszusprechen und deute die Körperchen nicht als Zentriolen, da ich ähnliche Gebilde auch auf den Polen der Spindeln in den Lymphzellen der Enchyträiden kenne, wo die Zentriolen-ähnlichen Körperchen nur als verdickte Endigungen der achromatischen Substanz oder vielleicht auch des umliegenden Cytoplasmas erscheinen.

Dann aber fehlen hier die Zentroplasmen und Strahlenbildungen, von welchen nach meinen Erfahrungen wirkliche Zentriolen begleitet werden müssen. Kurzum, die spindelförmigen Gebilde in den Stäbchen haben ihren Ursprung in der achromatischen Substanz der Kerne, während die chromatische, allerdings nicht näher definierbare Substanz im Aequator der Spindel angeordnet ist.

Es ist interessant, daß die Kernspindeln nicht immer in der Längsachse der Zelle liegen; in den meisten Fällen sehen wir zwar, daß die ringförmige chromatische Substanz (Fig. 11) im Aequator der Zelle selbst liegt und die Pole der Spindel ebenfalls die Längsachse wiederholen; aber ebenso zahlreich sind die Fälle, wo die Kernspindel schief zur Längsachse der Zelle liegt, wie Fig. 3 und 5 veranschaulichen. Es ist nicht leicht, zu entscheiden, welche Faktoren auf diese Lage mitgewirkt haben, da die weiteren Stadien der Spindelbildung in meinen Präparaten nicht existieren. Man kann nur vermutungsweise aussprechen, daß der Umfang des zentralen Plasmas die Spindellage bedingt; ist nämlich das Zentralplasma so breit in der Mitte der Zelle entwickelt, daß es der Spindellänge entspricht, so liegt die Spindel

in der Längsachse der Zelle; bildet dagegen das zentrale Plasma eine engere Insel als die Spindellänge beträgt, so nimmt die Spindel eine schiefe Lage ein. Es ist nämlich wahrscheinlich, daß die Spindelpole in die Vakuolen nicht einzudringen vermögen, oder eher, daß die Vakuolen selbst die Spindel in diese schiefe Lage innerhalb des zentralen Plasmas verdrängen.

Die jetzt nachgewiesene Existenz der Kernspindel in unserem Bakterium scheint dafür zu sprechen, daß meine frühere Auffassung, nach welcher sich das in der Hämolymphe lebende *Bacterium gamma* in einem Ruhestadium befindet und dabei nicht teilungsfähig ist, sich als unrichtig herausstellt. Die Spindeln könnten eher das Gegenteil unterstützen, nämlich daß sich die Stäbchen zur Teilung vorbereiten, wozu eben die Spindelbildung dient.

Es ist zwar möglich, daß die Bakterien zu gewisser Zeit, noch während des Aufenthaltes in der Hämolymphe, sich durch diesen Teilungsakt zu vermehren vermögen. Aber weitere Stadien der Teilung sind mir nicht bekannt, und es ist nur so viel wahrscheinlich, daß diese ersten Spindelstadien eine lange Zeit im Zustande der Ruhe verweilen. Solche Spindeln sind vielleicht denjenigen gleich, welche z. B. Doflein bei *Noctiluca* beschreibt, wo der Kern ebenfalls in der Gestalt der Spindel ein Ruhestadium durchmacht. Ich hoffe, auf diese Frage noch in einer späteren Arbeit zurückzukommen.

Die Kerne der encystierten Keime und der jungen Bakterien weichen von den der erwachsenen Stäbchen nur durch geringere Dimensionen ab. Im großen und ganzen wiederholen sie dieselben Formen; die chromatische Substanz ist meist kugelig oder halbmondförmig, ferner auch in Körnchen aufgelöst und zur Kernmembran gedrängt (Fig. 13—16). Der Kern liegt immer im Zentrum, nur ausnahmsweise pflegt er an einem Pole der Zelle gelagert zu sein, und dies nur in den Fällen, wenn sich die Vakuolen auf dem entgegenliegenden Pole in größerer Anzahl entwickelt haben (Fig. 17 a, b, c). Es muß aber hervorgehoben werden, daß in den Keimen und jungen Stäbchen spindelförmige Kerne nicht vorhanden sind.

Die Unterschiede zwischen den mit der Heidenhainschen Methode behandelten Bakterien und den mit Hämatoxylin oder Magnesiapikrokarmin gefärbten Stäbchen sind daher sehr beträchtlich. In meiner ersten Mitteilung habe ich nur homogen sich färbende Körperchen ohne bestimmte Kernmembran und eigentliche innere Struktur beschrieben. Nach der Eisenhämatoxylinmethode erscheint die färbbare Substanz in kugelig oder halbmondförmiger Gestalt oder zu Körnchen differenziert, während es nicht gelang die achromatische Substanz nach der früheren Methode zu erkennen.

Ueberraschend sind jedenfalls die spindelförmigen Kernfiguren mit der äquatorialen Anordnung der chromatischen Substanz, von welcher ich früher keine Ahnung haben konnte, und um so weniger diejenigen Autoren, welche sich mit der Kernfrage der Bakterien nach den üblichen Färbungsmethoden befaßt haben. Alle diese exakten Tatsachen müssen definitiv sämtliche Einwände gegen die Existenz der Kerngebilde bei den Bakterien beseitigen, denn dieser

Kern verhält sich in gleicher Weise wie in den pflanzlichen Zellen. Außerdem kann die nachfolgende Darstellung zur Erklärung dienen, warum in jeder Bakterienart, oder selbst in jedem Individuum derselben Art der Kern nicht zum Vorschein kommt.

2. Fadenbakterium aus *Bryodrilus Ehlersi* Ude.

In ganz zufälliger Weise war es mir ermöglicht, eine eigentümliche Bakterienart zu Gesicht zu bekommen, welche, mit modernen Fixierungs- und Färbungsmethoden behandelt, unzweifelhafte Beweise sowohl von der Struktur des Cytoplasmas als von den Gestaltsverhältnissen des Kernes während der Ruhe und der Teilungsvorgänge geliefert hatte.

Mein Assistent Dr. E. Mendl sammelte bei Grüntal im Isergebirge einige bisher in Böhmen unbekannte Enchyträiden, namentlich auch in größerer Menge den aus den Gebirgsgegenden Deutschlands bekannten *Bryodrilus Ehlersi* Ude. Da mich die Organisation dieses Oligochäten nach der Beschreibung Udes sehr interessierte, entschloß ich mich, einige Einzelheiten seiner Anatomie in Schnittserien zu studieren. Zu diesem Zwecke fixierte ich eine größere Anzahl von Exemplaren in dem Gemische Sublimat-Chromsäure, welche Methode bisher bei der Fixierung der Tiere sehr selten angewandt wurde. Es ist aber eine ausgezeichnete Härtungsmethode, welche ich Allen zu empfehlen mir erlaube, die sich mit tierischer Histologie und namentlich auch mit der Zellenlehre befassen. Diese Methode eignet sich auch vorzüglich für das Studium der Bakterienstruktur in den Schnittserien.

In einer dieser mit Hämatoxylin tingierten und mit Orange nachgefärbten Serien durch *Bryodrilus* fand ich den vorderen Teil der Magendarmhöhle mit einer ungeheueren Menge der Gregarine *Monocystis*¹⁾ infiziert, die mittels des Epimerits in den Zellen des Epithels eingepflanzt war. Der hintere Teil der Darmhöhle ist mit einem Bündel eines Fadenbakteriums angefüllt; auf allen Schnitten durch diese Region erscheinen die Fäden dicht aneinander gereiht und in der Länge der drei nacheinander folgenden Segmente gestreckt.

Ich glaube nicht, daß das Bakterium einen Parasiten des *Bryodrilus* vorstellt, sondern eher, daß es vom Wurm als Nahrung verschluckt wurde; in diesem Falle kann ich wieder nicht entscheiden, ob es aus dem Boden oder Wasser stammt. *Bryodrilus* selbst ist nämlich in gelbmodrigen Baumstümpfen bei Grüntal im Isergebirge gesammelt, in Prag ist er dagegen zur Erreichung einer gewissen Durchsichtigkeit im Wasser der Prager Wasserleitung gehalten worden. Somit vermag ich nicht anzugeben, ob das Bakterium in dem Detritus der Baumstümpfe oder im Moldauwasser lebt und von hier in den *Bryodrilus* als Nahrung gelangt ist.

Für unser Problem ist indessen dieser Umstand nebensächlich, dagegen erscheint es mir als sichergestellt, daß die Enzyme des

1) Diese Gregarine ist zwar ähnlich der in *Henlea leptodera* schmarotzenden und soeben von Jozef Nusbaum (Z. w. Z. Bd. LXXV. 1903) beschriebenen Monocystide „*Schaudinella*“ Nusb., bei welcher der Verfasser ebenfalls den Epimerit gefunden hat; aber der Parasit von *Bryodrilus* ist viel schlanker.

Darmes von *Bryodrilus* zur leichteren Fixierung und Färbung der Bakterienzellen wesentlich beigetragen haben, so daß die Fäden ohne Artefakte sowohl in den Strukturen des Cytoplasmas als auch des Kernes erscheinen, indem beide mit Hämatoxylin ebenso deutlich gefärbt sind wie die Gewebezellen von *Bryodrilus*.

Die Fäden, etwa $210\ \mu$ lang, bestehen aus vielen hintereinander folgenden Zellen und verschmälern sich allmählich zu wachsenden Endfäden. Die kernführenden Zellen sind $6\text{--}8\ \mu$ lang, und ich betrachte dieselben als ganz erwachsen. Sie sind in ganz entsprechender Art und Weise gebaut, wie die Zellen von *B. gammari*. Zur allgemeinen Orientierung wähle ich Fig. 21. Im Zentrum der Zelle ist wieder das Zentralplasma angehäuft, scheinbar homogen, gewiß aber feinkörnig und in Hämatoxylin grau gefärbt. Auf der Peripherie zieht eine überaus dünne Schicht des peripheren Plasmas von derselben Struktur hin, welches sich auf den Polen gewissermaßen dichter ansammelt. Große, hyaline Vakuolen vor und hinter dem Zentralplasma sind ebenso durch ihren Inhalt auffallend wie bei *B. gammari*. Das periphere Plasma erscheint oft auf dem optischen Längsschnitt stellenweise verdickt (Fig. 21); von der Oberfläche betrachtet, erscheinen diese Verdickungen als spiralförmig gewundene Reihen von Mikrosomen (Fig. 19), zwischen welchen wieder kleine Alveolen gelagert sind (Fig. 20). Es besteht also das periphere Plasma aus Alveolen, zwischen welchen knotenartig angehäuften und spiralig gewundenes Hyaloplasma sich befindet. Man darf diese Alveolen nicht mit den Vakuolen innerhalb der Zellen identifizieren.

Die metachromatischen Körnchen sind bei unserem Bakterium ebenfalls vorhanden, und wie Fig. 21 in dem optischen Längsschnitt veranschaulicht, liegen diese Körperchen nicht in den Vakuolen, sondern wieder in den Wandungen des peripheren Cytoplasmas. Sie treten sehr deutlich als schwarze, scharf umgrenzte Körnchen hervor.

Die weit größere Anzahl der Zellen zeichnet sich durch die eben beschriebene Struktur des Cytoplasmas aus. Außerdem finde ich, allerdings sehr selten, Zellen, die der Vakuolen entbehren und deren Cytoplasma durchaus alveoläre Struktur zeigt (Fig. 22, 23). In diesem Falle glaube ich, es mit alten Zellen zu tun zu haben, in denen die Kerne nur selten in Teilung begriffen sind (Fig. 23), vielmehr besitzen die letzteren eine unbestimmte Struktur, und noch öfter sind solche Zellen kernlos (Fig. 22 a, b).

Im großen ganzen stimmt also die Cytoplasmastruktur unseres Fadenbakteriums mit der von *B. gammari* überein. Aber um diese Verhältnisse handelte es sich mir erst in zweiter Reihe, da ich die Frage von der Existenz und Struktur des Kernes in den Vordergrund gestellt habe. Und in dieser Beziehung muß man nachfolgendes betonen: Sollte noch von irgend welcher Seite die Existenz der Kerne, deren Struktur und Teilungsvorgänge in Abrede gestellt oder angezweifelt werden, so muß das Fadenbakterium aus *Bryodrilus* alle diese Unsicherheiten beseitigen; denn alle diese Fragen kann man bei der in Rede stehenden Art unzweideutig beantworten.

In dem Zentralplasma liegt nämlich der kuglige (etwa $2\ \mu$ im

Durchmesser), bläschenförmige, mit scharf konturierter sogenannter Kernmembran und diffus grau sich färbendem Kernsaft versehene Kern. Im Zentrum (oder exzentrisch) dieses Kernes liegt ein schwarz sich färbendes, schwach glänzendes Körperchen oder mehrere ähnliche, zerstreute Körnchen. Nicht selten schien es mir, und auch die Kenner der Kernstrukturen, denen ich meine Präparate demonstriert habe, behaupteten, daß in den Kernen auch feine Fadenstrukturen mit eingestreuten Körnchen vorhanden sind. Ich verzeichne diese Beobachtung, doch kann ich mich nicht über diese auf der Grenze des Sehens stehenden und nicht immer über jeden Zweifel nachweisbaren Verhältnisse ausführlicher aussprechen. Das aber, was ich als sichergestellt und bei der Vergrößerung 1500 nachweisbar beschreibe, ist in Fig. 21, 24, 25 etc. veranschaulicht, wo ich namentlich auf die dunklen, innerhalb der Kernzentren befindlichen Körnchen aufmerksam mache. In manchen Fäden kann man einige hintereinanderfolgende Zellen sehen, die sich durch die eben beschriebenen Kerne auszeichnen. Sonst sind die Kerne mit mehreren dunklen Körnchen versehen, wie Fig. 26 und 27 zeigt, in anderen Fällen alternieren Zellen, wo nur ein Körnchen vorhanden ist, mit den viele Körnchen enthaltenden (Fig. 27), schließlich begegnet man Fäden, deren Zellen dunkel, fast homogen sich färbende Kerne führen (Fig. 28, 29 und 30). Immer aber haben sie dieselben Dimensionen und dieselbe Lage im zentralen Cytoplasma, wie im ersten Falle.

In manchen Fäden mit erwachsenen Zellen beobachtet man Kerne, welche nicht dem Ruhestadium entsprechen, sondern eher an eine Vorbereitung zur Teilung erinnern. Schon die Vermehrung der intensiv gefärbten Körnchen innerhalb der Kerne zeigt auf diese Vorbereitung vornehmlich aus dem Grunde hin, daß die chromatischen Körnchen zu zwei äquatorialen Reihen angeordnet sind (Fig. 27 a). Daß aus diesem Stadium die erste Phase der Kernteilung entstehen kann, zeigen die Figg. 20 (x), 31 (x), wo die chromatische Substanz in zwei gleiche halbkugelige Hälften geteilt ist, die sich intensiv färben und offenbar aus chromatischer Substanz bestehen, während zwischen beiden Hälften eine schmale farblose Zone, nämlich die achromatische Substanz, sich erstreckt. Wenn man nun mit Recht voraussetzt, daß sich die beiden Hälften der chromatischen Substanz weiter voneinander entfernen, obwohl mit feinen Fädchen verbunden, so erhält man die normale Spindel des sich teilenden Kernes, wie in der Fig. 32 (x) veranschaulicht ist. Bei allen angeführten Abbildungen kann die Bildung der normalen Spindel nicht bezweifelt werden, welche für die Teilung der Pflanzenzellen bezeichnend ist.

Wenn nun die beiden Spindelpole noch weiter voneinander getrennt werden, so erhält man die Figg. 33 u. 34 (x), in denen aber die chromatische Substanz weniger intensiv sich färbt und die Verbindungsfädchen viel weniger deutlich erscheinen. Sonst muß man hervorheben, daß von diesem Stadium an die chromatische Substanz auf den Spindelpolen überhaupt verschiedenen Nuancen der Färbung unterliegt: Bald sind die Polplättchen intensiv, bald schwächer gefärbt, und schließlich scheint es, als ob sie

sich überhaupt nicht färben und scheinbar nur die Zellgrenzen vorstellen.

Ein solches Bild liefert der in Fig. 35 (x , y , z) reproduzierte Faden, wo die obere Spindel x , offenbar noch jünger, ganz deutlich hervortritt, die weitere (y) ist noch erkenntlich, aber die untere besitzt nur undeutlich gefärbte Polplättchen, so daß man sie bei schwächeren Vergrößerungen leicht übersehen kann, da die Pole den Eindruck gewöhnlicher Zellgrenzen erwecken.

Die größten Schwierigkeiten für die Beurteilung der Selbstständigkeit einzelner hintereinanderfolgender Zellen liefern die am terminalen Ende wachsenden Fäden; je mehr nach hinten, d. h. fortschreitend zu den ältesten Zellen, um so häufiger begegnet man den kernführenden Zellen, je weiter aber nach vorne, um so häufiger fehlen die vollständig entwickelten Kerne, indem sie durch mehr oder weniger deutliche Spindeln ersetzt sind. Nach der Färbung der Pole und Entfaltung der Spindel — wie man in der Fig. 36 ersehen kann — enthalten die meisten Zellen ungleich entwickelte Spindeln mit ungleich intensiv sich färbenden chromatischen Polfiguren.

Für die morphologische Analyse der Endfadenteile ist es wirklich schwierig, zu bestimmen, wo die Grenzen der Zellen einerseits und der Spindeln andererseits zu suchen sind, vornehmlich auch deshalb, weil man die Differenzierung der Verbindungsfäden zwischen den polaren chromatischen Plättchen nicht genau ermitteln kann. Außerdem läßt es sich nicht bestimmen, wie man die plasmatischen Zellteile und die Vakuolen beurteilen soll, und die vollkommen rekonstruierten Kerne selbst sind bei diesen terminalen Partien eine wirkliche Seltenheit. Ebenso schwierig ist es, diese Endfäden treu nach der Natur bildlich zu reproduzieren, und wenn man in dieser Beziehung zuverlässig verfahren soll, ist es notwendig, eine gut entwickelte und färberisch differenzierte Spindel als Ausgangspunkt zu wählen und von hier aus nach vorne und nach hinten fortzuschreiten. In den beiden Fällen ist es aber doch immer schwierig bei der Kleinheit der Objekte zu erkennen, was man als Zellgrenzen — es ist fraglich, ob diese schon ausgebildet sind — und was man als chromatische Plättchen auffassen soll. Denn die letzteren entbehren meist der Färbung und erscheinen als aus winzig kleinen Körnchen zusammengesetzt, die sich bildenden Zellgrenzen nachahmend.

Mit allen diesen Schwierigkeiten rechnend, wollen wir z. B. den in Fig. 37 dargestellten Endfaden in seinen Komponenten verfolgen. Am terminalen Ende des Fadens liegt ein schwach gefärbtes Körperchen (a); es ist höchst wahrscheinlich ein junger, von einem undeutlichen Plasmahöfchen umgebener Kern; auf diese Weise endigen alle Fäden. Dann folgt eine hyaline Vakuole, darauf ein schwach tingierter Teil des unfertigen Kerns (b), eine Vakuole und vermutlich die Zellgrenze. Dann sieht man eine mit undeutlicher Spindel (c) versehene Zelle, weiter eine ähnliche Zelle mit Spindel (d), es folgt dann eine Zelle mit intensiver gefärbter Spindel (e) und noch zwei spindelführende Zellen (f , g). Diese höchst wahrscheinliche Deutung der nacheinanderfolgenden Kom-

ponenten des Endfadens läßt sich aber nur nach der Beobachtung bei guter Beleuchtung aufstellen, wobei es noch fraglich bleibt, ob die als Zellgrenzen bezeichneten Gebilde tatsächlich solche sind, und ebenso verhält es sich mit der Deutung der chromatischen Plättchen.

Wenn man nun weiter voraussetzt, daß die angeführte Deutung der Komponenten des Endfadens richtig ist, so muß sich hier eine Reihe von hintereinanderfolgenden Zellen zu gleicher Zeit geteilt haben, so daß hier also eine synchronische Teilung der Zellen *c*, *d*, *f* und *g* stattgefunden hat, während die Zelle *e* wahrscheinlich sich später teilte und die Zelle *b* bisher mit einem unfertigen, nicht geteilten Kerne versehen ist.

Als schwierigste Analyse erscheint mir die bei den Fäden, welche aus Zellen sehr verschiedenen Alters zusammengesetzt sind (Fig. 38). Hier befinden sich teils fertige Kerne, teils Teilungsstadien auf ungleichen Stufen der Entwicklung, oder schließlich Kerne im Stadium der einfachen polaren, chromatischen Plättchen. Als terminale Endigung erscheint wieder der schwach gefärbte Kern (*a*), dann folgen 4 Plättchen, von denen man angeben kann, daß sie 4 Spindelhälften vorstellen, somit Anlagen der sich bildenden Kerne, zwischen welchen die Zellgrenzen (*b*, *c*) fehlen. Dann folgt eine wirkliche, deutliche Zellmembran, zwischen der nachfolgenden Zelle, in deren Mitte eine ungeteilte Platte — die Anlage des unfertigen Kernes (*d*) — liegt. Danach folgt eine gut differenzierte Spindel mit polaren Plättchen und deutlichen Verbindungsfäden (*e*), in dem Abschnitte *f* liegt eine weniger differenzierte Spindel, ferner eine Zelle mit dem Anfange der Spindelbildung (*g*), ebenso in dem nachfolgenden Abschnitte (*h*), es ist aber unklar, was die Plättchen *i* vorstellen, ob es Spindeln oder sich bereits rekonstruierende Kerne aus der chromatischen Substanz sind. Schließlich folgt der Kern *x* in einer normalen Zelle.

In ähnlich komplizierten und schwierig zu deutenden Stadien der Zell- und Kernbildungen, bzw. Kernspindeln erscheinen sämtliche terminale Endigungen der Fäden unseres Bakteriums. Ich habe daher die zwei letzten Versuche dieser Analysen angeführt, um auf die Schwierigkeiten der einwandfreien Deutung hinzuweisen, was die Kernanlage im Stadium der Spindel und was die Zellwand ist. Damit steht wohl in Zusammenhang die Unmöglichkeit der bestimmteren Angaben über die Verhältnisse des Cytoplasma und der Vakuolen.

Aus allen diesen Tatsachen glaube ich folgern zu müssen, daß es infolge der raschen Teilung nicht sofort zur Bildung der Zellwände kommt, sondern daß die chromatischen Plättchen, noch ehe es zu einer Kernrekonstruktion kommt, sich schon wieder zur Teilung anschicken, und es kann daher ziemlich lange dauern, bevor sich die Plättchenelemente zu definitiven Kernen anordnen. Dadurch wird die Tatsache erklärt, daß vollkommen rekonstruierte Kerne nur in den alten Zellen vorkommen.

Allgemeine Deutung.

Aus der vorliegenden Beschreibung beider Bakterienarten geht hervor, daß hier normale Kerne vorkommen, solange die Stäbchen

im Ruhestadium sich befinden. Bei *Bacterium gammari* sind die Kerne vorhanden sowohl in erwachsenen Zellen als auch in den Keimen und wachsen heran, wenn der sichelförmige Keim in das junge Stäbchen übergeht. Ich glaube über jeden Zweifel nachgewiesen zu haben, daß diese Kerne morphologisch den Kernen höherer Organismen entsprechen, namentlich auch dadurch, daß die Spindeln dieselben Gestaltsstadien wiederholen, wie bei den tierischen und pflanzlichen Zellen.

Es geht aber aus den angeführten Beobachtungen auch hervor, daß ganze Reihen der Zellen unseres Fadenbakteriums, namentlich in den terminalen Teilen, scheinbar der Kerne entbehren, indem sie als vermutliche Vakuolenreihen erscheinen, zwischen welchen mehr oder weniger dünne, körnige Zellwände vorkommen. Eingehende Untersuchungen lassen aber erkennen, daß man es hier bald mit den polaren Kernplättchen im Stadium der Spindeln oder mit den sich rekonstruierenden Kernen zu tun hat. Den ganzen Vorgang dieser Rekonstruktion zu verfolgen, gelang mir allerdings nicht, und vermochte nur dichtere, körnige Ansammlungen zu beobachten. Ferner glaube ich, daß gewisse auffallende Strukturen, wie die in Fig. 39 u. 40 abgebildeten, in Gestalt von knäuelartiger Anordnung der Körnchen, weitere Stadien dieser Rekonstruktion vorstellen. In dieser Beziehung müssen eingehende Beobachtungen an zahlreicherem Material, als mir zu Gebote stand, angestellt werden.

Im großen und ganzen vermag man aus den Strukturen der Endfäden zu folgern, daß die Teilung der Zellen entweder sehr rasch nacheinander folgt, und daß die noch nicht vollkommen rekonstruierten Kernplättchen sich wieder teilen und neue Spindeln reproduzieren; oder aber kann man vermuten, daß die Rekonstruktion der Tochterkerne in den Zellen der Endfäden sehr langsam und in ungleichen Zeitabständen fortschreitet. Für diese letztere Hypothese sprechen eben die älteren Zellen, in denen die Kerne verschiedenartig entwickelt sind und in der letzten Instanz als vollkommene, den Kernen höherer Zellen entsprechende Bestandteile erscheinen.

Aber in den meisten Bakterienarten wird die Existenz der Kerne geleugnet; auch in unserem Fadenbakterium kommen zwischen den normalen kernführenden Zellen einige vor, die tatsächlich keine Spuren der Kerne erkennen lassen. Diese Zellen zeichnen sich auch durch eine andere Cytoplasmastruktur aus als die kernführenden; man findet hier keine Vakuolen, kein differenziertes zentrales und peripheres Cytoplasma, sondern das ganze Stäbchen besteht aus kleinen Alveolen mit feinkörnigen Knotenpunkten, wodurch solche Zellen an die Strukturen erinnern, welche Bütschli, Schewjakow und neuerdings Schaudinn bei anderen Bakterien beschrieben haben. Solche Zellen sind sehr selten, aber in einzelnen finde ich Spuren der Kerne in Gestalt der zentral liegenden, schwach sich färbenden kugligen Körnchen, ohne bestimmte chromatische und achromatische Struktur. Ein Teil des Fadens mit den eben erwähnten und oben bereits beschriebenen Zellen ist in Fig. 22 veranschaulicht. Es liegen 4 Zellen vor, von denen zwei kernlos sind (a, b) und zwei je einen undeutlichen Kern aufweisen.

Anfänglich hielt ich derartige Fadensegmente für eine andere Art als die oben beschriebene; später aber überzeugte ich mich, daß die in Rede stehenden Zellen von abweichender Struktur auch zwischen den normalen kernführenden Zellen vorhanden sind. Danach glaube ich, daß der beschriebene Faden (Fig. 22) aus älteren Zellen besteht, deren Plasma und Kerne Umbildungen eingehen, die sich schließlich in vollständigem Verluste der Kerne und der Herstellung des alveolären Cytoplasmas in dem ganzen Zellumfange kundgeben.

Es ist daher möglich, daß bei einem großen Teile der Bakterien, bei dem es bisher nicht gelang, den Kern zu entdecken, diese Abwesenheit entweder auf der rasch vor sich gehenden Teilung beruht, so daß der Kern überhaupt in ein Ruhestadium nicht gelangt, oder daß die früher hier existierenden Kerne infolge gewisser Umbildungen des Cytoplasmas einer Degeneration anheimfielen. Gewiß aber bestätigen diese Tatsachen, daß die Bakterien keine ursprüngliche Protophytengruppe vorstellen, sondern daß man sie von höheren Formen ableiten muß (A. Meyer, Schaudinn).

Es bleibt schließlich die Frage zu beantworten, wie sich meine Befunde zur Theorie Zettnows über die Verteilung der chromatischen Kernsubstanz im Cytoplasma verhält. Die diffuse Verteilung der Kernsubstanz in den Bakterien ist bereits 1887 von Weigert vertreten worden, und neuerdings geben übereinstimmend Schaudinn und R. Hertwig an, daß sich die chromatische Kernsubstanz im Laufe der Entwicklung namentlich auch im Cytoplasma der Protozoen verteilt. Sehr eingehend und ausführlich setzt seine diesbezüglichen Ansichten und Erfahrungen R. Hertwig¹⁾ auseinander; nach diesem Verfasser existiert oft der Kern der Protozoen nicht als vollständiges Körperchen, sondern kann im Cytoplasma — z. B. den Foraminiferen — ein reichlich verzweigtes Netz seiner chromatischen Substanz bilden. Auch im ganzen Körper verteilte chromatische Körperchen — die Chromidien — können — z. B. bei *Actinosphaerium* — vorhanden sein und in gewissen Fällen den Kern selbst vertreten. Es können nach Hertwig auch Organismen existieren, welche des Kernes überhaupt entbehren, dieses Gebilde aber in der Gestalt von chromatischen Strängen den ganzen Zellkörper oder einen Teil desselben durchtreten. Solche Organismen sind Bakterien und Oscillarien, „Organismen ohne dirigierendes Zentrum“.

Daß diese Lehre für *Bacterium gammari* überhaupt nicht gelten kann, geht aus der oben zu wiederholten Malen hervorgehobenen Tatsache hervor, daß die genannte Art in allen Stadien seines Lebens mit echten Zellkernen versehen ist. Auch die vollkommen entwickelten Zellen des Fadenbakteriums aus *Bryodrilus* widersprechen der Hertwigschen Theorie. Nirgends findet man „Chromidien“ oder „Chromatinnetze“, sondern immer nur regelrechte Kerne.

Es bleiben nur die polaren „Kernplättchen“ der Spindelbildungen in den Zellen der terminalen Fäden des letzterwähnten Bakteriums übrig, die sich, wenig oder überhaupt nicht färbend, nur als

¹⁾ Hertwig, R., Protozoen und die Zelltheorie. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902.)

mehr oder weniger deutliche Körnchenansammlungen kundgeben. Man könnte dieselben als „Chromidien“ bezeichnen, was aber überflüssig wäre, denn die „Kernplättchen“ entsprechen nur den chromatischen Tochterknäueln auf den Spindelpolen höherer Zellen. Daß ich sie mit dem indifferenten Namen „Kernplättchen“ bezeichnet habe, hat darin seinen Grund, daß eine spezielle Analyse derselben nicht möglich war und deren Uebergang in den eigentlichen Kern sich nicht so einfach verfolgen läßt.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren wurden bei Zeiss apochr. Obj. hom. Immersion 2 mm und dem Kompensationsokular 8, bei ausgezogenem Tubus entworfen.

Fig. 1—12. *Bacterium gammari* n. sp., erwachsene Stäbchen.

Fig. 1. Verteilung des Cytoplasmas mit Kern und metachromatischem Körnchen auf dem peripheren Cytoplasma.

Fig. 2. Querschnitt durch das Bakterium mit metachrom. Körnchen.

Fig. 3. Großes Bakterium mit Spindel und metachrom. Körnchen auf den Plasmasträngen zwischen 2 Vakuolen.

Fig. 4. Ähnliches Bakterium mit metachrom. Körnchen.

Fig. 5. Stäbchen mit schiefliegender Spindel.

Fig. 6. Bakterium mit dem zu einem Pole verschobenen Kerne und ungleich entwickelten Vakuolen.

Fig. 7. Kurzes elliptisches Bakterium, in welchem der Kern einseitig auf plasmatischen Strängen aufgehängt ist.

Fig. 8—9. Normale Zellen mit Kernen.

Fig. 10. Chromatische Substanz zu zwei Hälften geteilt.

Fig. 11. Bakterium mit der in der Zellachse liegenden Spindel. Chromatische Substanz kreisförmig angeordnet.

Fig. 12. Querschnitt durch die Vakuole.

Fig. 13—17. Keime und junge Stäbchen derselben Art.

Fig. 13 a, b, c. Keime, in denen sich das Cytoplasma bisher nicht differenziert hat.

Fig. 14 a, b. Junge Stäbchen mit der ersten Vakulenbildung.

Fig. 15 a, b, c. Junge Bakterien mit Vakuolen und metachrom. Körnchen.

Fig. 16. Junges Stäbchen mit den sich vermehrenden Vakuolen.

Fig. 17 a, b, c. Junge Bakterien mit einseitig liegenden Kernen und Vakuolen.

Fig. 18—40. Teile des Fadenbakteriums aus dem Darne von *Bryodrilus Ehlersi* Ude.

Fig. 18. Zelle in optischem Längsschnitte mit zentralem und peripherem Cytoplasma, metachrom. Körnchen, Vakuolen und dem Kerne.

Fig. 19. Teil des Fadens von der Oberfläche mit spiralig gewundenem Hyaloplasma und durchscheinenden Kernen.

Fig. 20. Zwei Zellen mit alveolärer Struktur; n Kern, x erstes Spindelstadium.

Fig. 21. Zelle im opt. Längsschnitte mit peripherem Plasma und 3 metachrom. Körnchen.

Fig. 22. 4 Zellen mit abweichender Plasmastruktur, von denen 2 (a, b) der Kerne entbehren, in 2 anderen sind die Kerne undeutlich.

Fig. 23. Zelle mit Spindel.

Fig. 24, 25. Teil der Fäden, deren Zellen vollkommene Kerne führen.

Fig. 26. Teil des Fadens mit einer Zelle, deren Kern lappenförmig ist.

Fig. 27. In einer Zelle (a) besteht der Kern aus 2 Reihen chromatischer Körnchen.

Fig. 28—30. Zellen, deren Kerne sich mehr homogen färben, aber dieselben Gestaltsverhältnisse aufweisen wie in Fig. 24.

Fig. 31. 2 Zellen, von denen die hintere einen aus zwei Hälften bestehenden Kern besitzt.

Fig. 32. 3 Zellen, von denen die hintere (x) normale Spindel besitzt.

Fig. 33. Zelle mit gestreckter Spindel.

Fig. 34. 2 Zellen, von denen die erste mit einer gestreckten Spindel versehen ist.

Fig. 35. 5 Zellen, von denen 3 (x, y, z) verschiedenartig entwickelte Spindeln enthalten.

Fig. 36. Teil des Fadens, deren Zellen mehr oder weniger deutliche Spindeln führen.

Fig. 37. Synchronisch geteilte Zellen am Ende des Fadens. a terminaler Kern (?), b der sich rekonstruierende Kern, c, d, e, f, g Spindeln.

Fig. 38. Terminaler Faden mit ungleich entwickelten Zellen und Kernanlagen; a terminaler Kern (?), b, c Spindeln, d unfertiger Kern, e normale Spindel, f undeutliche Spindel, g unfertiger Kern, i Kernanlage.

Fig. 39, 40. 2 Fäden, in denen die Zellen (x) merkwürdige knäuelartige Anordnung der chromatischen Substanz enthalten.

Nachdruck verboten.

Kritische Studien über die Knöllchenbakterien.

[Mitteilung aus dem Institute für Versuchswesen und Bakteriologie an der kgl. landw. Hochschule zu Berlin.]

Von **H. Süchting**, Assistenten am Institute.

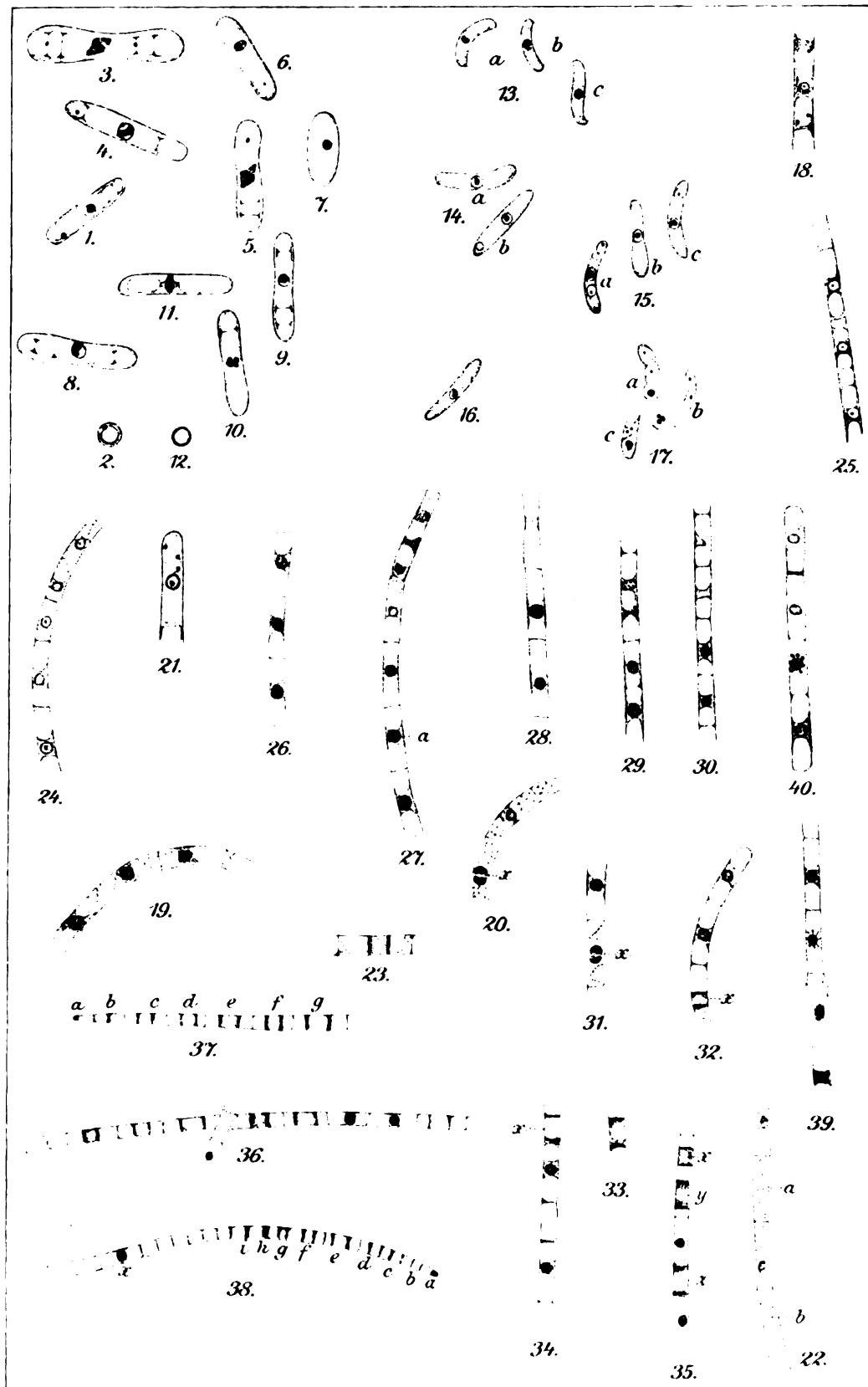
(Schluß.)

Es liegt nun nahe, zu folgern, daß man durch denkbar günstig gestellte Ernährung der Pflanze, d. h. in diesem Falle speziell durch reichliche Versorgung mit leicht assimilierbarem Stickstoff, diese benutzen kann, die virulentesten Bakterien aus dem Boden zu isolieren; denn nur diese vermögen solche Pflanzen zu infizieren. Andererseits würde auch die Annahme erklärlich sein, daß die Pflanze in sehr günstigem Ernährungszustand weit energischer auf die Bakterien virulenz erhöhend einzuwirken in der Lage ist, wenn die Virulenz der in ihren Knöllchen enthaltenen Bakterien überhaupt noch einer weiteren Steigerung fähig ist.

In dieser Richtung wurden vier Versuche angestellt. Als Ausgangsmaterial für die Gewinnung der Impfmittel, auch hier wieder sowohl Reinkulturen wie Knöllcheninfuse, dienten Pflanzen, die unter sonst gleichen Vegetationsbedingungen in demselben, virulente Bakterien enthaltenden Boden gewachsen, aber mit steigenden Stickstoffgaben in Form von Salpeter gedüngt waren. Neben einer ausreichenden Grunddüngung erhielten die Pflanzen in Reihen zu je drei Gefäßen eine Differenzdüngung, dergestalt, daß die erste Reihe ungedüngt blieb, und jede nachfolgende 0,3 g Stickstoff pro Topf mehr erhielt als die vorhergehende. Die ganze Serie bestand aus sechs Reihen, so daß die stärkste Düngung mit Salpeter = 1,5 g Stickstoff war. Für jeden der vier Versuche kam je eine solche Serie von Pflanzenkulturen als Ausgangsmaterial für die Impfmittel in Anwendung.

Den Versuchsplan zeigt folgendes Schema:

			Reihe I ungeimpft.
Reihe II	Reinkulturen aus den Knöllchen von Pflanzen:	Knöllcheninfus von	ohne Stickstoffdüngung
Reihe III			mit 0,6 g Stickstoff pro Topf
Reihe IV			„ 1,5 g
Reihe V			„ ohne „Stickstoffdüngung
Reihe VI	„	„	mit 0,6 g Stickstoff pro Topf
Reihe VII	„	„	„ 1,5 g „ „



Nejdovský bez

Verlag v. Gustav Fischer, Jena

Lib. Art. v. Kaiser Jena

Versuch I.

Die Pferdebohnen wurden am 6. Juni in kleine Tontöpfe gepflanzt. Die zur Impfung benutzten Reinkulturen waren am 18. Mai auf Pflanzenextraktgelatine isoliert, am 6. Juni auf neuen Nährboden übertragen und bei der Impfung 7 Tage alt. Sie zeigten üppiges Wachstum, ohne Unterschiede, ihrer Herkunft aus verschiedenen stark mit Stickstoff gedüngten Pflanzen entsprechend, in der Schnelligkeit des Wachstums erkennen zu lassen. Die Beerntung dieses Versuches erfolgte nach normal verlaufener Vegetation am 6. August.

Versuch II.

Der Versuch wurde am 26. Juli durch Einpflanzen der Pferdebohnen in große Tongefäße eingeleitet. Die benutzten Reinkulturen waren bei der Impfung 8 Tage alt. Die Kolonien wurden in der Mehrzahl schon am zweiten Tage nach der Abimpfung als kleine, weiße Pünktchen sichtbar und wuchsen in der Folgezeit außerordentlich rasch, auch hier wieder die Kulturen aus Pflanzen mit verschiedener Stickstoffdüngung gleichmäßig gut und schnell.

Bezüglich des Knöllchenbesatzes bei den Pflanzen mit Stickstoffdifferenzdüngung war bei beiden Serien zu konstatieren, daß mit zunehmender Düngung die Zahl und Größe der Knöllchen abnahm.

Die Vegetation der Pferdebohnen verlief normal, die Ernte erfolgte am 24. September.

Versuch III.

Für diesen Versuch erfolgte die Einpflanzung der Lupinen in kleine Tongefäße am 7. Juni. Die zur Impfung benutzten Reinkulturen waren am 3. Juni angelegt (Nährboden: Pflanzenextraktgelatine). Es dauerte durchschnittlich 10–12 Tage, bis die Kolonien dem bloßen Auge sichtbar wurden, von da ab wuchsen die Kulturen sehr gut. Sie waren bei der Benutzung 16 Tage alt. Auch hier zeigten wieder die Reinkulturen völlige Avirulenz, nur in Reihe III kam es zu einer geringen Stickstoffsammlung, da Pflanzen aus allen drei Paralleltöpfen Knöllchen aufwiesen und die ungeimpfte Vergleichsreihe knöllchenfrei blieb, ist spontane Infektion nicht anzunehmen. Die Beerntung dieses Versuches erfolgte am 27. September.

Tabelle V.

Versuch I. Versuchspflanze: Pferdebohne.

Versuchsreihe	Impfmittel	Ernte in g				Bemerkungen
		luftt. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N	
I. ungeimpft		34,0	31,7	1,63	0,517	In der ungeimpften Reihe die Pflanzen eines Topfes bis auf eine knöllchenfrei, die Pflanzen der anderen Töpfe an den Nebenzurzel teilweise infiziert.
		44,0	41,7	1,98	0,826	
		55,0	53,5	1,48	0,792	
II. Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung		66,0	62,5	2,93	1,831	
		72,5				

Versuchsreihe	Impfmittel	Ernte in g				Bemerkungen
		lufttr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N	
III.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung	68,6 79 0	61.5 73,2	3,27 2,68	2,011 1,962	In der Knöllchenbildung bei den Pflanzen der geimpften Reihen kein Unterschied, überall sehr reichlicher Knöllchenansatz an Haupt- und Nebenwurzeln.
IV.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung	73.5 79,0	69,6	2,87	1,998	
V.	Knöllcheninfus von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung	74,0 73,0				
VI.	Knöllcheninfus von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung	80,0 79,6	72,8	3,01	2,191	
VII.	Knöllcheninfus von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung	75,0 69,0				

Tabelle VI.

Versuch II. Versuchspflanze: Pferdebohne.

I.	ungeimpft	35,5 34,2	32,8	2,15	0,705	Einzelne Pflanzen der ungeimpften Reihe tragen kleine Knöllchen an der Nebenwurzel.
II.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung	62,0 64,5				
III.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung	63,0 59,5	58,4	2,42	1,413	In den geimpften Reihen kein Unterschied in der Knöllchenbildung.
IV.	Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung	68,0 74,0	58,7 68,6	2,42 2,38	1,421 1,633	
V.	Knöllcheninfus von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung	62,0 70,0	58,1 65,3	2,54 2,44	1,476 1,593	
VI.	Knöllcheninfus von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung	71,5 87,0	66,6 81,2	2,41 2,29	1,605 1,859	
VII.	Knöllcheninfus von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung	60,0 54,5	55,3 51,8	2,42 2,54	1,338 1,316	

Tabelle VII.
Versuch III. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

Versuchsreihe	Impfmittel	Ernte in g				Bemerkungen
		luftt. Substanz	Absolute Trocken- substanz	% N in der Trocken- substanz	N	
I. ungeimpft		16,0	15,0	1,10	0,165	knöllchenfrei.
		22,0	20,2	0,99	0,200	
		17,5	16,5	1,06	0,175	
II. Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung		15,5	13,8	1,81	0,250	Bei einzelnen Pflanzen große Anschwellungen an den Nebenwurzeln.
		19,5	17,3	2,07	0,358	
		14,5	13,2	1,68	0,222	
III. Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung		27,5	25,2	2,33	0,587	Die Pflanzen eines Topfes knöllchenfrei, in zwei Töpfen tragen die Pflanzen vorwiegend an der Neben- aber auch an der Hauptwurzel mäßig große Knöllchen. Auch hier einige Pflanzen knöllchenfrei.
		51,0	47,6	3,00	1,428	
		14,5	13,2	1,32	0,174	
IV. Reinkultur aus Knöllchen von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung		17,0	15,7	1,06	0,166	knöllchenfrei.
		20,0	18,4	1,44	0,265	
		13,5	12,6	1,10	0,139	
V. Knöllcheninfus von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung		83,5	77,7	2,96	2,300	Bei den Reihen V, VI und VII überall starker Knöllchenbesatz ohne Unterschiede zwischen den einzelnen Reihen.
		73,0	68,5	2,88	1,973	
VI. Knöllcheninfus von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung		85,0	77,9	3,03	2,360	
		83,5	79,4	2,89	2,295	
VII. Knöllcheninfus von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung		76,0	71,2	2,89	2,058	
		101,5	93,9	2,89	2,714	

Tabelle VIII.
Versuch IV. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

I. ungeimpft		17,8	15,8	1,34	0,212	knöllchenfrei.
		7,2	6,6	1,43	0,094	
		7,0	6,5	1,43	0,093	
II. Knöllcheninfus von Pflanzen ohne Stickstoffdüngung		81,0	73,7	3,32	2,447	Bei den Reihen II, III und IV überall starker Knöllchenbesatz an Haupt- und Nebenwurzeln, bei einzelnen Pflanzen viele kleine Knöllchen an den Nebenwurzeln, perl schnurartig angereicht.
		82,5	76,5	3,08	2,356	
III. Knöllcheninfus von Pflanzen mit mittlerer Stickstoffdüngung		97,2	91,6	3,03	2,775	
		92,0	85,6	3,15	2,696	
IV. Knöllcheninfus von Pflanzen mit starker Stickstoffdüngung		61,0	56,8	3,75	2,130	
		63,7	58,9	3,97	2,338	

Versuch IV.

Bei diesem Versuch fielen die Reihen II—IV aus. Die Lupinen wurden am 12. Juli in große Tongefäße gepflanzt und beim Aufgang mit den entsprechenden Knöllcheninfusen geimpft. Nach störungslos verlaufener Vegetation erfolgte die Ernte am 27. Oktober.

Die Resultate dieser vier Versuche enthalten die Tabellen V, VI, VII und VIII (siehe p. 497, 498 u. 499).

Die Reihen II—IV des ersten Lupinenversuches müssen zunächst, weil keine oder nur geringe Stickstoffsammlung eingetreten ist, ausgeschaltet werden. Ebenso muß auch Reihe VII desselben Versuches ausfallen, weil die Werte der beiden Parallelgefäße außerordentlich differieren; hier muß ein Versuchsfehler im Spiele sein, der leider nicht aufgedeckt werden konnte.

Vergleichen wir nun die Stickstoffernten der anderen Reihen, so ersieht man, daß die Differenzen zwischen den in Frage stehenden Reihen so gering sind, daß sie zum größten Teil innerhalb der Fehlergrenze liegen. Allerdings scheint ja eine Gesetzmäßigkeit insofern zu bestehen, als die Reihen, die mit Bakterien aus mäßig mit Stickstoff versorgten Pflanzen geimpft sind, eine etwas höhere Ernte an Stickstoff sowie an Trockensubstanz aufweisen. Besonders eklatant ist diese Erscheinung bei dem letzten Lupinenversuch, wo die dritte Reihe der zweiten um über 0,3 g Stickstoff und 18 Proz. Trockensubstanz überlegen ist, und die gute Uebereinstimmung der Parallelgefäße in den einzelnen Reihen macht dieses Resultat noch beachtenswerter. Demgegenüber hat der erste Lupinenversuch etwa gleiche Stickstoffernten in den Reihen V und VI ergeben, und bei den Pferdebohnen ist die Ueberlegenheit der Reihen, wo Bakterien aus Pflanzen mit mittelstarker Düngung zur Anwendung kamen, über die Reihen, wo Pflanzen ohne Stickstoffdüngung die Bakterien zur Impfung lieferten, wenn auch übereinstimmend in derselben Richtung, so doch nicht ausgesprochen genug und nicht hinreichend scharf abgegrenzt von Reihe zu Reihe, um aus diesen Werten allein definitive Schlüsse ziehen zu können.

Auffällig ist nun aber noch die geringe Produktion an Pflanzenmasse und Stickstoff der Reihen VII des Pferdebohnenversuches II resp. Lupinenversuches IV. Auch die Reihe VII des ersten Versuches zeigt diese Erscheinung, wenn auch hier deshalb nicht auffällig, weil die Differenz zwischen den Reihen VII und VI innerhalb der Fehlergrenze liegt. Es ist wohl kaum anzunehmen, daß in allen Fällen und bei beiden Parallelgefäßen Pflanzenindividualitäten die Ursache für diese Erscheinung gewesen sind. Am nächstliegenden ist es, an eine Virulenzschwächung der Bakterien zu denken. Aber bei genauer Betrachtung der Zahlenwerte muß auch diese Annahme fallen. Denn gesetzt, es wäre dies der Fall, so würden doch die sehr hohen prozentischen Stickstoffgehalte in der Trockensubstanz, die bei den Lupinen die der anderen vergleichbaren Reihen II und III sogar bei weitem übertreffen, ohne stichhaltige Erklärung bleiben. Hier muß vielmehr angenommen werden, daß diese Bakterien sich durch sehr hohe Vegetationsenergie auszeichneten.

Ich kann hier nicht vermeiden, etwas näher auf die Begriffe

Vegetationskraft und Virulenz einzugehen und stehe damit mitten in der außerordentlich interessanten, völlig dunklen Frage, wie die Assimilation des freien Stickstoff durch die Bakterien eigentlich erfolgt. Hiltner hat jüngst den Versuch gemacht, eine Erklärung für diesen Vorgang zu bringen, aber seine Anschauung erscheint so eigenartig, daß ich mich derselben nicht anschließen kann¹⁾. Sehen wir nun, welche Vorgänge in den Knöllchen eigentlich vor sich gehen dürften. Plasmalösende Enzyme sind bei den Leguminosen nicht nachgewiesen, eine Resorption der Bakterien und dadurch bedingte Ernährung der Pflanze mit Stickstoff erscheint schon aus diesem Grunde ausgeschlossen. Die Ansicht mancher Forscher geht nun dahin, daß die Stoffwechselprodukte der Bakterien als stickstoffhaltige Körper die Form darstellen, in der die Pflanze diesen Nährstoff aufnimmt. Diese Ansicht hat außerordentlich viel für sich. Es ist wohl als sicher anzunehmen, daß die Ausscheidungsprodukte der Bakterien von der Pflanze aufgenommen werden. Wäre dieses nicht der Fall, so müßten sich dieselben in den Knöllchen anhäufen, und wie die Biologie der Lebewesen lehrt, Schädigung, Degeneration oder Tod derselben bewirken. Wir sehen aber, daß die Bakterien aus der Symbiose mit der Pflanze gerade lebenskräftiger hervorgehen, daß also die Bedingungen in den Knöllchen die günstigsten für das Fortbestehen dieser Mikroben sind. Schon hierdurch wird die Annahme sehr gestützt, daß Stoffwechselprodukte der Bakterien die Stickstoffnahrung der Pflanze darstellen. Außerdem sind aber noch Beobachtungen gemacht, die ebenfalls hierfür sprechen. Von verschiedenen Forschern sind nämlich unter besonderen Verhältnissen in den Knöllchen Körper vorgefunden, die sich bei normalen Vegetationsverlauf der Pflanzen nicht darin fanden. Es sind dies teilweise als wachsartige Substanzen bezeichnete Körper, die mit Jod eine rotbraune Farbe annehmen. In abnormen Erbsenknöllchen wurden sie besonders häufig gefunden, außerdem aber auch in Knöllchen anderer Papilionaceen am Ende der Vegetation dieser Pflanzen. Es liegt die Vermutung sehr nahe, daß wir es hier mit den Stoffwechselprodukten der Bakterien zu tun haben, und daß diese bei normalen Verhältnissen tatsächlich von der Pflanze fortgenommen werden. Dafür sprechen die Umstände, unter denen sie gefunden worden sind. In normalen Knöllchen sind sie selten vorhanden, weil hier Fortnahme durch die Pflanze erfolgt. Bei der Erbse zeigen sie sich häufig bei anormaler Entwicklung, weil die Pflanze unter diesen Umständen dieselben nicht verarbeiten kann, ebenso treten sie am Schluß der Vegetation auf, weil hier die Stoffaufnahme der Pflanze bereits ihren Abschluß gefunden hat. Nicht genug hiermit, Hiltner konnte neuerdings nachweisen, daß in den Knöllchen verdunkelter Rotkleeplanzen diese rotbraun färbbaren Stoffe, die übrigens mit der „wachsartigen“ Substanz nicht identisch sein sollen, ebenfalls zu finden sind. Auch diese Erscheinung spricht dafür, daß Stoffwechselprodukte der Bakterien die Körper sind, die bei normal vor sich gehender Entwicklung der Pflanze von dieser als Stickstoffnahrung aufgenommen werden.

1) Siehe Teil I dieser Arbeit.

Nach dieser Theorie würde nun aber die Virulenz, d. h. das Stickstoffsammelungsvermögen, direkt als Funktion der Vegetationsenergie erscheinen, weil die Masse der Stoffwechselprodukte, die der Vegetationskraft proportional ist, den wahrnehmbaren Virulenzgrad der Bakterien darstellen müßte. Hier zeigt sich, daß die Theorie in dieser Form noch nicht allen Anforderungen, die an sie gestellt werden müssen, genügt. Durch dieselbe finden die Erscheinungen, die durch die avirulente, sogenannte Pseudoform der Bakterien hervorgerufen werden, keine Erklärung, die unter diesen Verhältnissen gemachten Beobachtungen scheinen derselben vielmehr direkt zu widersprechen. Denn hier finden wir Bakterien, die sich in den Knöllchen sehr stark vermehren, ohne indessen der Pflanze irgendwie Stickstoff zuzuführen. Das zeigt zur Genüge, daß die Virulenz keinesfalls allein oder wenigstens unter Umständen nicht von der Vegetationsenergie abhängig ist. Diese sich scheinbar widersprechenden Tatsachen sind nur dann vereinbar, wenn man die Annahme macht, daß die Pseudoform und die virulente Bakterienform sich durch verschiedenen Stoffwechsel unterscheiden.

Diese Erscheinung wäre keineswegs ohne Analogon in der Bakterienkunde. So sehen wir bei den pathogenen Bakterien, daß gesteigerte Virulenz durch größere Produktion von Toxinen zum Ausdruck kommt, während die avirulente Form diese Produktion nicht aufweist. Ähnliche Erscheinungen sind bei den Farbstoffbildnern vorhanden, bei Avirulenz keine Farbstoffbildung, steigender Virulenz parallel gehend steigende Produktion der Pigmente, ohne daß in beiden Fällen die Vegetationsenergie Unterschiede aufzuweisen brauchte.

Die Virulenz der Knöllchenbakterien ist nun nach dieser Theorie zu definieren als Aeüßerung des in normaler Richtung vor sich gehenden, mit Ausscheidung von stickstoffhaltigen Produkten verbundenen Stoffwechsels vegetationskräftiger Bakterien.

Steigt die Virulenz, so werden auch mehr diese stickstoffhaltigen Produkte, vielleicht auch solche von höherem Stickstoffgehalt, ausgeschieden, und dies geschieht sowohl in wie außerhalb der Pflanze. In der Pflanze ist die Wirkung dieser Exkrete bessere Ernährung derselben mit Stickstoff, außerhalb der Pflanze leichteres Eindringen der Bakterien in die Wurzelhaare, da diese Ausscheidungen die Antikörper der Pflanze neutralisieren.

Bei der Kultur außerhalb der Pflanze sowie bei krankhaften Zuständen in ihr häufen sich diese Stoffwechselprodukte mehr oder weniger an und schädigen die Bakterien selbst. Die Folge hiervon ist unter Umständen Sinken der Virulenz, und dies ruft bei dem krankhaften Zustand der Bakterien anomalen Stoffwechsel mit Bildung von wenig stickstoffhaltigen Ausscheidungen oder gänzlichem Ausbleiben derselben und Eintreten von anderen Exkreten hervor.

Diese Annahme von dem Wesen der Vegetationsenergie und Virulenz der Knöllchenbakterien und von ihrem Ineinandergreifen trägt den Erfahrungssätzen und bis jetzt gemachten Beobachtungen am besten Rechnung.

Greifen wir nun auf die oben gemachte Annahme zurück, daß bei den dort erwähnten Pflanzenkulturen die niedrige Produktion

an Masse durch übermäßig hohe Vegetationsenergie der Bakterien verursacht sein kann, so muß zunächst erwähnt werden, daß diese Beobachtung auch schon anderweitig gemacht ist, wie ich weiter unten anführen werde. Diese Erscheinung wird nun dadurch bedingt, daß die resultierende Gesamtwirkung der Bakterien auf die Pflanze sich aus zwei Komponenten, den Einzelwirkungen der Vegetationsenergie und der Virulenz, zusammensetzt. Die Vegetationskraft ist hier wegen ihrer schädlichen Wirkung auf die Pflanze, durch Fortnahme organischer Stoffe durch vegetationskräftige Bakterien, mit negativem Vorzeichen zu setzen, andererseits die Virulenz mit positiven Vorzeichen, weil hierdurch der Nutzen bedingt wird, den die Pflanze aus der Symbiose mit den Bakterien zieht. Je nachdem, wie das Verhältnis beider zu einander sich gestaltet, ist die resultierende Wirkung auf die Pflanze verschieden, ungünstig bei Avirulenz, am günstigsten bei einem bestimmten Verhältnis beider zu einander und zwar dann, wenn die Virulenz einen solchen Grad besitzt, daß der dadurch bedingte Nutzen den durch Fortnahme von Energiestoffen für die Bakterien verursachten Schaden am weitesten übertrifft, und schließlich wieder ungünstig, wenn zwar die Virulenz sehr hoch ist, aber die Vegetationsenergie ein solches Maß erlangt, daß die Masseproduktion der Pflanze dadurch schwer geschädigt wird. Den letzten Fall nun haben Nobbe und Hiltner schon früher bei der Erbse und neuerdings Hiltner ebenfalls bei der Erbse beobachtet, daß nämlich bei einer Impfung mit sehr virulenten Bakterien die Pflanzenproduktion geringer war als bei gleichzeitig ungeimpft gebliebenen Pflanzen. Beide Forscher haben als Ursache die Schädigung durch zu vegetationskräftige Bakterien angenommen. Dasselbe dürfte auch wie oben erwähnt, für die hier in Frage stehenden Pflanzenkulturen zutreffend sein, wie in diesem Fall neben der geringeren Trockensubstanzproduktion noch besonders der hohe Stickstoffgehalt andeutet.

Es muß nun aber auffallen, daß bei den analogen, mit Reinkulturen geimpften Reihen bei den Pferdebohnen diese Erscheinung nicht vorhanden ist. Hier ist in einem Fall die gleiche, einmal sogar teilweise eine höhere Stickstoffsammlung der letzten Reihe IV gegenüber der dritten Reihe zu bemerken. Zunächst ist hierdurch eine weitere Bestätigung dafür gegeben, daß bei den soeben betrachteten Reihen mit Knöllcheninfus als Impfmittel eine Virulenzschwächung der bezüglichen Bakterien nicht die Ursache der im Verhältnis zu den anderen Reihen geringeren Förderung der Pflanzen sein kann, weil Bakterien aus gleichartig behandelten Pflanzen desselben Topfes, in Reinkultur gezüchtet, größere Stickstoffsammlung bewirkt haben. Diese merkwürdige Tatsache findet nun ferner eine Erklärung durch die Annahme, daß die Vegetationsenergie der Bakterien durch die Kultivierung auf künstlichen Nährmedien eine Einbuße erlitten hat. Für diese Annahme sprechen nicht nur wegen der Analogie die Resultate, die mit den Lupinen-Reinkulturen erzielt sind, auch die Pferdebohnenbakterien haben eine geringe Schwächung erfahren, wie ein Vergleich der mit Reinkulturen bzw. direkt von Pflanze zu Pflanze übertragenen Bakterien in den ver-

gleichbaren Reihen, mit Ausnahme der hier in betracht kommenden natürlich, ergibt. Diese Annahme kann durch die hier angeführten Versuche allein allerdings nicht ausreichend gestützt werden, überhaupt fehlt der definitive Beweis, weil die Differenzen innerhalb der Fehlergrenze liegen, aber die in der Mehrzahl übereinstimmende Ueberlegenheit der Knöllcheninfuse bei allen diesbezügliche Vergleichung zulassenden Kulturen anderer, bereits mitgeteilter oder noch folgender Versuche macht die Annahme sehr wahrscheinlich, und dieselbe gibt die einfachste Erklärung für diese Erscheinung.

Wenn man nun alle einzelnen Momente, die sich aus diesen Versuchen ergeben, zusammenfaßt, so muß es als sehr wahrscheinlich betrachtet werden, daß günstigeren Ernährungsbedingungen für die Pflanze eine stärkere Einwirkung derselben auf die Bakterien durch Erhöhung der Virulenz und Vegetationskraft parallel geht. Definitive Beweiskraft aber ist meinen Versuchen abzusprechen, sie können nur einen Beitrag liefern. Ich muß hier wiederholen, was ich schon mehrfach erwähnte, daß die Aenderung in der Stickstoffaufnahme der betreffenden Pflanzenkulturen, die durch diese Virulenzhöhung verursacht wird, derartig gering ist, daß sie mit Hilfe des Topfversuches nur schwierig einwandfrei meßbar ist. Es steht indessen zu erwarten, daß man unter peinlichster Berücksichtigung aller maßgebenden Faktoren, besonders mit einer großen Anzahl von Parallelgefäßen und mit Berechnung des mittleren Fehlers nach der Methode der kleinsten Quadrate zu einem unzweideutigen Ergebnis kommen wird.

Mit Sicherheit geht aus diesen Versuchen noch hervor, daß die Behauptung Hiltners, daß der Salpeter auf die Bakterien schädlich wirkt, wenigstens für die Lupinen- und Pferdebohnenbakterien unzutreffend ist.

3. Beeinflussung der Virulenz der Bakterien außerhalb der Pflanze durch die Züchtung auf künstlichen Nährböden.

a) Einfluss verschiedener Nährböden.

1. Versuche des Jahres 1902.

Die Tatsache, daß die Virulenz der Bakterien bei der Züchtung auf künstlichen Nährmedien je nach der Beschaffenheit derselben starke Veränderungen erleiden kann, ist wohl schon so alt, wie die Reinkultivierung der Spaltpilze überhaupt. Die Erfahrungen, die man bei der Verwendung des Nitragins gemacht hat, haben bestätigt, daß dies auch für die Knöllchenbakterien zutrifft, wenn auch der Mißerfolg mit diesen Kulturen nicht allein hierauf zurückzuführen ist.

In jüngster Zeit sind von verschiedenen Forschern zahlreiche Nährböden der verschiedensten Zusammensetzung auf ihre Brauchbarkeit zur Züchtung der Knöllchenbakterien untersucht. Fast alle diese Untersuchungen beschränken sich jedoch darauf, ein mehr oder minder starkes Wachstum der eingepfachten Bakterien zu konstatieren. Daß dies für eine genaue Orientierung über den Wert dieser Substrate nicht ausreichend ist, zeigt zur Genüge die

Avirulenz gut wachsender Lupinenbakterien. Eine Entscheidung über die Brauchbarkeit der Nährböden kann nur die Prüfung des Stickstoffsammelungsvermögens der darauf kultivierten Bakterien in Symbiose mit der Pflanze liefern, und im folgenden will ich Untersuchungen in dieser Richtung anführen.

Als Nährböden für die Bakterien wurden fast ausschließlich Extrakte von Samen oder grünen Pflanzen der betreffenden Leguminose verwendet und zwar in folgender Zusammensetzung, zunächst für Pferdebohnenbakterien:

Nährboden I: Samenextrakt 1:100, 10 Proz. Gelatine, Acidität: neutrale Reaktion (mit Soda neutralisiert). Herstellung des Samenextraktes: 10 g Mehl von Pferdebohnen Samen werden mit Wasser bei 3 Atmosphären Druck 1 Stunde erhitzt, filtriert und das Filtrat auf 1 l aufgefüllt.

Nährboden II: wie Nährboden I, aber eine Acidität pro 100 ccm Nährboden = $3,0 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ K(OH)}$ in Aepfelsäure.

Nährboden III: wie Nährboden II mit einem Zusatz von 1 Proz. Inulin.

Nährboden IV: wie Nährboden II mit einem Zusatz von 0,5 Proz. Asparagin.

Nährboden V: Pflanzenextrakt 1:10, 10 Proz. Gelatine, Acidität gleich der des Extrakts 100 ccm = $2 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ K(OH)}$. Herstellung des Pflanzenextrakts: 100 g grüne Pflanzen mit Wurzeln werden 1 Stunde bei gewöhnlichem Druck mit Wasser in der Hitze extrahiert, die erhaltene Lösung filtriert und auf 1 l aufgefüllt.

Nährboden VI: Pflanzenextraktlösung 1:10, Acidität: 100 ccm der Lösung = $2-2,5 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ K(OH)}$, Zusatz: 1 Proz. Inulin.

Nährboden VII: Samenextraktlösung 1:100, Acidität 100 ccm = $1,5 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ K(OH)}$.

Für Lupinenbakterien gelangten die Nährböden I—V in denselben Mengenverhältnissen wie für die Pferdebohnenbakterien in Anwendung, nur mit dem Unterschied, daß statt der Bestandteile von Pferdebohnen solche von Lupinen verwendet wurden. Außerdem wurden noch folgende Nährmedien benutzt:

Nährboden VI: 100 ccm Bodenextrakt, 2 Proz. Agar, 2 Proz. Dextrose. Reaktion neutral. Herstellung des Bodenextraktes: 1 kg Boden wird im Autoklaven bei 3 Atmosphären Druck 1 Stunde mit 1 l Wasser extrahiert, die Lösung filtriert und auf 1 l aufgefüllt.

Nährboden VII: Pflanzenextraktlösung nach Neumann¹⁾: Mit Wasser und Alkohol extrahierte oberirdische Pflanzen werden nach dem Trocknen gemahlen und von diesem Rückstand 0,5 g in Reagenzgläschen gegeben und mit 10 ccm Leitungswasser versetzt. Sterilisieren.

Nährboden VIII: Samenextraktlösung nach Neumann¹⁾: 20 g der feinen Samen werden mit 1 l Wasser, in dem 1 g K(OH)

1) Neumann, Landw. Versuchsstationen. Bd. LVI.

aufgelöst ist, in der Kälte 24 Stunden extrahiert, nach dem Absetzen des Mehles die klare Lösung abgehebert und mit Phosphorsäure versetzt, bis nur noch schwache Alkalität nachzuweisen ist.

Versuche mit Pferdebohnen.

Die Vegetationsversuche mit Pferdebohnen kamen in 2 Serien zur Ausführung, in der Serie I wurden die Nährböden I—V, in der zweiten alle Nährböden mit Ausnahme von No. II zur Züchtung der Bakterien benutzt. Die Pferdebohnen wurden am 6. Juni in kleine Thongefäße gepflanzt und beim Aufgang geimpft. Da 5 Nährböden geprüft wurden, waren einschließlich der ungeimpften und der mit direkt aus Pflanzen kommenden Bakterien (Knöllcheninfus) geimpften Reihe 7 Versuchsreihen vorhanden.

Die Reinkulturen waren bei der Impfung der Pferdebohnenkulturen 7 Tage alt, sie waren natürlich alle aus denselben Pflanzen isoliert. Am besten wuchsen die Bakterien auf den Nährböden III und V, hier wurden die Kolonien schon am 2. Tage nach der Abimpfung sichtbar und bildeten nach weiteren 3—5 Tagen große, schleimige, weißliche Kulturen. Das Wachstum auf den anderen Nährböden war aber auch immerhin gut zu nennen. Störungen im Verlauf der Vegetation traten nicht ein, die Ernte erfolgte am 6. August.

Für Serie II wurden die Bohnen am 26. Juli in große Thongefäße eingepflanzt. Verwendung fanden hier 6 Nährböden, der Versuch bestand demnach aus 8 Reihen. Die zur Impfung benutzten Reinkulturen waren 10 Tage alt. Auf den festen Nährböden war das Wachstum in der gleichen Weise verschieden wie bei dem ersten Versuch, die Nährböden III und V zeichneten sich auch hier aus. In den beiden Nährlösungen, in die von Nährboden V übergeimpft war, fand sehr starke Vermehrung statt, nach 2 Tagen starke Opaleszenz, nach 3—5 Tagen Lösung trübe, schleimiger Bodensatz.

Was die morphologischen Eigenschaften der Bakterien auf den verschiedenen Nährmedien anlangt, so konnte ich auf den festen Nährböden in keinem Fall, auch nicht bei den vielen Reinkulturen, die für andere Versuche in Verwendung kamen, jemals Abweichungen von der kurzen Stäbchenform beobachten. In den Nährlösungen dagegen bildeten sich schon nach 1—2 Tagen 3—4 μ lange, gerade und gekrümmte Stäbe aus, und nach weiteren 24 bis 48 Stunden waren zahlreiche verzweigte Formen vorhanden.

Im Verlauf der Vegetation trat auch bei Versuch II keine Störung ein, die Ernte erfolgte am 24. September.

II. Versuche mit Lupinen.

Die Lupinen des ersten Versuches wurden am 7. Juni in kleine Tongefäße gepflanzt. Zur Reinkultivierung der Bakterien fanden die Nährböden I—V Anwendung. Der Versuchsplan war derselbe wie bei den Pferdebohnenversuchen. Das Wachstum der Lupinenbakterienkulturen setzte im Gegensatz zu dem der Pferdebohnenbakterien erst etwa 8—10 Tage nach der Abimpfung ein, dann

trat allerdings auch hier gute Vermehrung ein. Die Kulturen waren bei der Impfung der Lupinen 16 Tage alt.

Eine Stickstoffsammlung trat neben der mit Knöllcheninfus geimpften Reihe nur noch in der Reihe auf, die mit auf Nährboden III kultivierten Bakterien geimpft war. Die Förderung der Pflanzen war aber hier nur schwach und unregelmäßig. Die Ernte erfolgte am 27. September.

Ein zweiter Versuch mit den Nährböden I, III und V als Substrat für die Reinkulturen wurde am 12. Juli eingeleitet. Die zur Impfung benutzten Bakterienkulturen zeigten auch hier anfangs langsame Entwicklung und später mäßig gutes Wachstum.

Eine Stickstoffsammlung trat bei den beiden Reinkulturreihen ein, wo die Nährböden I und III zur Züchtung der Bakterien benutzt wurden, aber auch hier ungleich und gering. Die Ernte erfolgte am 27. Oktober.

Der dritte Versuch wurde am 8. August begonnen. Als Nährböden für die Kultur der zur Impfung benutzten Bakterien dienten No. III, VI, VII und VIII. Die Kulturen auf Nährboden III wuchsen gut, dagegen fand in den Nährlösungen, in die teils von Nährboden III, teils direkt aus Knöllchen eingeimpft war, nur spärliche Vermehrung statt. Auf dem Agarnährboden bildeten die Bakterien schon nach 2—3 Tagen große, grauweiße, stark schleimige Kolonien.

Auch bei den Lupinenbakterien konnte die Beobachtung gemacht werden, daß die Vermehrung der Bakterien auf den festen Nährböden ausschließlich in der Stäbchenform geschah, dagegen waren in den Nährlösungen vorwiegend lange Stäbe und 6—7 μ lange, unverzweigte Bakteroiden vorhanden, daneben auch bisweilen kleinere verzweigte Formen.

Eine Förderung der geimpften Pflanzen trat nur in einem Falle auf. Auch hier bewirkten wieder die auf Nährboden III kultivierten Bakterien eine wenn auch nur geringe Stickstoffsammlung. Die Resultate dieser Versuche sind in den Tabellen IX, X und XI (siehe p. 508, 509, 510) enthalten.

Wie wir auch schon bei einigen vorher besprochenen Versuchen gesehen haben, sind die Lupinenbakterien durch Züchtung auf den angeführten Nährböden fast vollkommen avirulent geworden. Wir haben also hier die interessante Tatsache, daß auch die Knöllchenbakterien, wenigstens die Bakterien der gelben Lupine, in der sogenannten Pseudof orm existieren können. Zu einer mehr oder minder starken Knöllchenbildung ist es nur in den Fällen gekommen, wo Nährboden I und III und die beiden Nährlösungen zur Züchtung der zur Impfung benutzten Bakterien dienten, eine Stickstoffsammlung dagegen haben nur die auf Nährboden I oder III kultivierten Bakterien bewirkt und zwar bei Nährboden III in allen Fällen, wo derselbe zur Anwendung gekommen ist. Die zur Reinkultivierung der Lupinenbakterien benutzten Nährsubstrate müssen nach diesen Untersuchungen als gänzlich ungeeignet bezeichnet werden. Daß die Bakterien auf Nährboden I einen geringen Virulenzgrad behielten, deutet darauf hin, daß neutrale Nährböden geeigneter

sind, wie saure; diese Erscheinung werden wir übrigens bei den Pferdebohnenbakterien ebenfalls finden. Ebenso führt das Verhalten der auf Nährboden III isolierten Bakterien zu dem Schluß, daß die Lupinenbakterien hohe Anforderungen an die Kohlenstoffenergiequelle stellen. Andererseits zeigt das negative Resultat mit dem

Tabelle IX.
Versuch I. Versuchspflanze: Pferdebohne.

Versuchsreihe	Impfmittel. Die Bakterien wurden gezüchtet auf	Ernte in g				Bemerkungen zur Knöllchenbildung
		Lufttr. Substanz	absolute Trocken- substanz	% N in der Trocken- substanz	N	
I. ungeimpft		34,0 44,0 55,0	31,7 41,7 53,5	1,63 1,98 1,48	0,417 0,826 0,792	In der ungeimpften Reihe sind die Pflanzen eines Topfes bis auf eine knöllchenfrei, einige Pflanzen der anderen Töpfe tragen an der Nebenwurzel kleine Knöllchen. Bei dem geimpften Pflanzen kein Unterschied in der Knöllchenbildung.
II. Nährboden I.		69,5 77,0	66,1	3,12	2,062	
III. Nährboden II.		67,0 74,0				
IV. Nährboden III.		70,5 80,5	65,0	2,94	1,911	
V. Nährboden IV.		75,0 78,0				
VI. Nährboden V.		76,0 87,0	67,7 78,0	3,00 2,97	2,031 2,317	
VII. Knöllcheninfus. (Vergleichsreihe mit direkt übertragenen Bakterien.)		80,0 79,6				

Versuch II. Versuchspflanze: Pferdebohne.

I.	ungeimpft	35,5 34,2	32,8	2,15	0,705	In der ungeimpften Reihe einzelne Pflanzen infiziert. Knöllchenbildung bei den geimpften Pflanzen ohne Unterschied.
II.	Nährboden I.	76,0 65,0				
III.	Nährboden III.	56,0 60,3	55,2	2,59	1,430	
IV.	Nährboden IV.	62,2 62,5				
V.	Nährboden V.	70,7 65,5	64,3	2,39	1,537	
VI.	Nährboden VI.	79,2 67,2				
VII.	Nährboden VII.	59,5 69,0	55,2 64,0	2,50 2,27	1,380 1,453	
VIII.	Knöllcheninfus. (Vergleichsreihe mit direkt übertragenen Bakterien.)	71,5 87,0				
			66,6 81,2	2,41 2,29	1,605 1,859	

Tabelle X.
Versuch I. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

Versuchsreihe	Impfmittel. Die Bakterien wurden gezüchtet auf	Ernte in g				Bemerkungen zur Knöllchenbildung
		lufttr. Substanz	absolute Trocken- substanz	% N in der Trocken- substanz	N	
I. ungeimpft		16,0	15,0	1,10	0,165	knöllchenfrei
		22,0	20,2	0,99	0,200	
		17,5	16,5	1,06	0,175	
II. Nährboden I.		17,0	16,0	1,15	0,184	Eine Pflanze trägt eine große Anschwellung an der Hauptwurzel, alle übrigen Pflanzen knöllchenfrei
		10,0	9,2	1,13	0,104	
		15,0	13,6	1,24	0,169	
III. Nährboden II.		14,5	13,2	1,17	0,154	knöllchenfrei
		23,0	20,2	1,15	0,232	
		15,0	13,9	1,12	0,156	
IV. Nährboden III.		37,5	34,1	2,12	0,723	Einzelne Pflanzen in allen Töpfen tragen sehr große Knöllchen an Haupt- u. Neben- wurzeln
		31,5	28,7	2,18	0,626	
		17,0	15,9	1,06	0,169	
V. Nährboden IV.		12,0	10,7	1,16	0,124	knöllchenfrei
		17,5	15,8	1,20	0,190	
		14,5	13,3	1,16	0,154	
VI. Nährboden V.		17,5	15,7	1,09	0,171	knöllchenfrei
		15,0	13,8	1,21	0,167	
		12,5	11,5	1,23	0,141	
VII. Knöllcheninfus		85,0	77,9	3,03	2,360	Reichliche Knöllchen- bildung
		83,5	79,4	2,89	2,295	

Versuch II. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

I. ungeimpft		17,8	15,8	1,34	0,212	knöllchenfrei
		7,2	6,6	1,43	0,094	
		7,0	6,5	1,43	0,093	
II. Nährboden I.		22,0	19,7	3,46	0,682	Die Mehrzahl der Pflan- zen trägt vorwiegend an den Nebenwurzeln aber auch an der Hauptwurzel große Knöllchen, einzelne Pflanzen knöllchen- frei
		17,0	16,0	2,69	0,430	
		26,0	24,2	3,42	0,828	
III. Nährboden III.		25,5	23,7	1,81	0,429	Teils knöllchenfrei, teils bis gut erbsengroße Knöllchen an Haupt- und Nebenwurzeln
		14,2	13,2	1,97	0,260	
		15,2	13,9	2,73	0,379	
IV. Nährboden V.		14,6	13,5	2,08	0,281	knöllchenfrei
		14,7	13,1	1,45	0,190	
		13,8	12,3	1,42	0,175	
V. Knöllcheninfus		97,2	91,6	3,03	2,775	Reichliche Knöllchen- bildung
		92,0	85,6	3,15	2,696	

Tabelle XI.
Versuch III. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

Versuchsreihe	Impfmittel Die Bakterien werden gezüchtet auf:	Ernte in g				Bemerkungen zur Knöllchenbildung
		Lufttr. Substanz	Absolute Trocken- substanz	% N in der Trocken- substanz	N	
I. ungeimpft		9,0	8,5	1,74	0,148	knöllchenfrei.
		7,6	7,2	1,70	0,122	
		12,0	10,7	1,75	0,187	
II. Nährboden III		19,2	17,4	2,70	0,470	Alle Pflanzen tragen viele kleine Knöllchen an den Nebenwurzeln. Hauptwurzel war in 5 Fällen mit großen Knöllchen besetzt.
		15,8	14,0	3,10	0,434	
		25,5	22,8	3,25	0,741	
III. Nährboden VIII		11,4	10,8	1,90	0,205	Die Pflanzen eines Topfes knöllchenfrei, in den anderen Töpfen tragen einige Pflanzen mäßig große Knöllchen an den Nebenwurzeln.
		12,5	11,2	1,68	0,188	
		12,5	11,2	2,03	0,227	
IV. Nährboden VII		11,2	10,6	1,74	0,184	knöllchenfrei.
		12,6	11,4	1,39	0,158	
		12,6	11,9	1,80	0,214	
V. Nährboden VIII (Bakterien direkt aus Knöllchen in die Lö- sung geimpft)		12,5	11,2	1,65	0,185	Bei einer Pflanze 2 kleine Knöllchen an der Nebenwurzel, alle übrigen knöllchenfrei.
		12,9	12,2	2,02	0,246	
		14,8	13,3	1,64	0,218	
VI. Nährboden VII (Bakterien direkt aus Knöllchen in die Lö- sung geimpft)		14,6	13,7	1,88	0,258	Einzelne Pflanzen in allen Töpfen tragen kleine Knöllchen an den Nebenwurzeln. die Mehrzahl knöll- chenfrei.
		12,0	11,1	1,85	0,205	
		12,6	11,4	1,61	0,184	
VII. Nährboden VI		12,5	11,8	1,60	0,189	knöllchenfrei.
		14,5	13,0	1,56	0,203	
VIII. Knöllcheninfus (Ver- gleichsreihe mit direkt von Pflanze zu Pflanze übertragenen Bakterien)		45,8	40,1	4,21	1,688	Reichliche Knöllchen- bildung.
		42,0	39,1	3,93	1,537	
		55,8	49,0	3,80	1,862	

Agarnährboden VI, daß diese allein nicht maßgebend ist, daß viel-
mehr als zweiter wichtiger Faktor Körper in Frage kommen, die
nur in Lupinenextrakten vorhanden sind. In Uebereinstimmung
mit dem neuerdings von Hiltner¹⁾ empfohlenen Nährboden zeigen
demnach auch diese Versuche, daß Kohlenhydrate und Pflanzen-
extrakte für die Kultivierung virulenter Bakterien unbedingt er-

1) Hiltner und Störmer, Arbeiten aus der biolog. Abt. des kais. Ge-
sundheitsamtes. Bd. III. H. 3. p. 276.

forderlich sind. Daß die schädigende Wirkung der Gelatine, auf die Hiltner hingewiesen hat, nicht allein die Avirulenz der Bakterien bewirkt, zeigt die ungünstige Wirkung des Agarnährbodens auf die Bakterien.

Ein wesentlich anderes Bild zeigen die Versuche mit Pferdebohnenbakterien. Daß eine Virulenzschwächung durch Züchtung auf Nährböden auch hier eingetreten ist, wie ich es schon an anderer Stelle¹⁾ bemerkte, zeigt ein Vergleich der Reinkulturreihen mit den bezüglichen Reihen VI des ersten und VII des zweiten Versuches, bei denen die Bakterien direkt von Pflanze zu Pflanze übertragen wurden. Die Reinkulturen haben in der großen Mehrzahl eine geringere Stickstoffsammlung mit den Pferdebohnen bewirkt. Indessen nimmt diese Virulenzschwächung nicht im entferntesten den Wert an wie bei den Lupinenbakterien.

Was nun die einzelnen Nährböden anbetrifft, so zeigt sich zunächst, worauf ich oben schon hinwies, daß auch für die Pferdebohnenbakterien neutrale Nährsubstrate geeigneter zu sein scheinen als schwach saure, wie die Ernteziffern der Kulturen, und zwar in beiden Fällen übereinstimmend besagen, zu deren Impfung auf Nährboden I gezüchtete Bakterien dienen. Von den anderen Nährböden zeichnet sich No. V aus, auf dem ja auch besseres Wachstum der Bakterien zu beobachten war, während Nährboden III, bei dem dasselbe der Fall war, in beiden Versuchen mit an niedrigster Stelle steht. Es ist dies ein weiterer Beweis dafür, daß nach dem Wachstum der Bakterien allein nicht auf die Güte des Nährbodens zur Kultur derselben geschlossen werden darf.

Von den beiden Nährlösungen steht No. VII auf dem Niveau der festen Nährböden III und IV, die Pflanzenextraktlösung VI bietet ebenso wie der Pflanzenextraktnährboden V den Bakterien die besten Ernährungsbedingungen. Es führt dies, ebenso wie bei den Lupinenbakterien zu der Annahme, daß die Substanzen, die in grünen Pflanzen und wohl besonders in deren Wurzeln vorhanden sind, für die Züchtung der Bakterien am geeignetsten sind. Ein Unterschied zwischen festen und flüssigen Nährmedien ist nicht ausgesprochen wahrnehmbar, denn selbstverständlich sind Pflanzenextraktlösungen und Samenextraktnährboden und umgekehrt nicht vergleichbar. Demnach ist auch ein Zusammenhang von gesteigerter Virulenz und Bakteroidenbildung, wie es Hartleb behauptet hat, nicht wahrscheinlich.

2) Versuche des Jahres 1903.

Die in diesem Jahr ausgeführten Untersuchungen über die vorliegende Frage sind als Fortsetzung der vorjährigen Versuche aufzufassen. Inzwischen war von Hiltner²⁾ ein neuer Nährboden für Lupinenbakterien angegeben worden, der zur Kultur der Bakterien für diese Versuchsreihen benutzt wurde.

Bezüglich der Versuchsanordnung und Durchführung gelten in jeder Beziehungen die eingangs angeführten Methoden. Als Ver-

1) Siehe Abschnitt 2c dieser Abhandlung.

2) l. c.

suchspflanzen kamen die gelbe und die blaue Lupine in Anwendung, die in großen Tongefäßen kultiviert wurden (Versuch A und B). Im einzelnen ist noch folgendes zu erwähnen: Als Vergleichsreihen zu den mit verschiedenen Reinkulturen geimpften Reihen dienten außer der ungeimpften Kontrollreihe je eine mit Knöllcheninfus und Impferde behandelte Reihe. Jede Reihe enthielt 6 Parallelgefäße. Ein Teil der Kulturen wurde im Stadium der Blüte, der Rest im Stadium der Fruchtbildung der Pflanzen geerntet, um verfolgen zu können, in wie weit Unterschiede in den einzelnen Reihen durch längere Vegetation eine Verschiebung erleiden.

Die Düngung betrug 1 g K_2O als Chlorkalium und 2,6 g P_2O_5 als Präzipitat; die Kulturen der gelben Lupine mit längerer Vegetationszeit erhielten außerdem am 10./8. 0,25 g P_2O_5 als wasserlösliches Calciumphosphat und 0,5 g K_2O als Chlorkalium in Form einer Nährlösung. Die Aussaat erfolgte bei den gelben Lupinen am 20./5., bei den blauen Lupinen am 22./5., die Impfung am 28./5. Reinkulturen wie Infuse entstammten Pflanzen aus Topfkulturen der gleichen Herkunft. Der benutzte Nährboden für die Reinkulturen hatte folgende Zusammensetzung: Dekokt von 100 g grüner Keimpflänzchen samt Wurzeln auf 1000 ccm, Zusätze 1 Proz. Dextrose, $1\frac{1}{2}$ Proz. Agar, lakmusneutral mit kohlen-saurem Kalk.

Die Reinkulturen von Bakterien der gelben Lupine waren für eine Versuchsreihe Originalabimpfungen aus Knöllchen, bei der Benutzung zur Impfung 17 Tage alt, für eine zweite Reihe 2mal auf frischen Nährboden übertragene Kulturen, 6 Tage alt. Die Reinkulturen der blauen Lupine waren, die Originalabimpfungen

Tabelle XII.
Versuch A. Versuchspflanze: Gelbe Lupine.

Versuchsreihe	Impfmittel	I. Ernte in g				Versuchsreihe	II. Ernte in g			
		lufr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N		lufr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N
I.	ungeimpft	16,1 25,0	14,2 22,0	1,257 1,279	0,178 0,281	I.	20,5 22,7 24,8	18,2 20,0 21,9	1,162 1,166 1,131	0,211 0,223 0,248
II.	Reinkultur (Originalabimpfung)	132,2 127,2 127,5	116,2 111,6 112,5	2,950 2,860 2,947	3,428 3,191 3,315	II.	151,3 176,7 176,0	133,6 156,2 155,3	2,929 2,750 2,912	3,913 4,296 4,523
III.	Reinkultur (übertragene Kulturen)	108,8 130,3 130,3	94,6 113,4 113,6	2,883 3,060 2,966	2,727 3,470 3,370	III.	179,1 153,4 158,5	157,2 136,7 141,4	2,980 2,850 2,933	4,685 3,896 4,147
IV.	Knöllcheninfus	125,2 146,4 142,5	109,2 129,3 124,1	2,876 2,858 2,933	3,141 3,695 3,640	IV.	179,6 — —	160,6 — —	2,754 — —	4,423 — —
V.	Impferde	79,5 70,3 81,3 47,2	70,3 61,1 71,3 40,9	2,836 2,833 3,213 2,841	1,994 1,731 2,355 1,162	V.	175,8 122,0 103,5 128,2	156,6 108,1 92,2 112,4	2,782 2,848 2,903 3,002	4,356 3,079 2,677 3,374

Tabelle XIII.
Versuch B. Versuchspflanze: Blaue Lupine.

Versuchsreihe	Impfmittel	I. Ernte in g				Versuchsreihe	II. Ernte in g			
		lufttr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N		lufttr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N
I. ungeimpft		43,2	38,7	1,692	0,655	I.	26,4	24,0	1,373	0,330
		33,0	30,1	1,653	0,498		36,4	33,4	1,209	0,404
		32,8	29,9	1,411	0,422		35,9	32,2	1,251	0,403
II. Reinkultur (Originalimpfung)		150,2	134,6	2,909	3,916	II.	—	—	—	—
		151,5	135,3	2,958	4,002		193,3	174,5	2,386	4,164
		150,0	137,7	2,942	4,051		—	—	—	—
III. Reinkultur (übertragene Kulturen)		157,9	144,8	2,985	4,322	III.	190,7	172,2	2,367	4,076
		132,5	118,3	2,922	3,456		195,6	181,7	2,319	4,214
		149,5	136,5	2,975	4,061	IV.	174,2	156,8	2,550	3,998
		143,6	128,8	2,951	3,801		150,1	135,0	2,622	3,540
IV. Knöllcheninfus		98,5	88,0	3,384	2,978	V.	134,5	121,2	2,545	3,085
		104,5	93,3	3,214	2,999		126,7	114,4	2,643	3,024
		113,1	101,6	3,162	3,213					
		104,1	93,1	3,279	3,053					
V. Impferde		80,1	71,0	3,348	2,377					
		78,5	71,8	3,416	2,453					
		90,0	79,9	3,546	2,833					

23 Tage, die 2mal übertragenen Kulturen 6 Tage alt. Alle Kulturen zeigten sehr üppiges Wachstum in Gestalt eines stark schleimigen, grauweißen Rasens.

Die Impferde stammte bei den gelben Lupinen von dem schon früher erwähnten ewigen Lupinenfeld, bei den blauen Lupinen von einem Kartoffelfeld, das vor einigen Jahren blaue Lupinen getragen hatte.

Die erste Ernte erfolgte bei den gelben Lupinen am 6./8., bei den blauen am 23./7., die zweite Ernte bei den gelben Lupinen am 24./8., bei den blauen am 7./8. Einige Töpfe mußten leider wegen durch Wurzelbrand veranlaßter Krankheitserscheinungen der Pflanzen beseitigt werden.

Die zahlenmäßigen Ergebnisse sind in den Tabellen XII und XIII enthalten.

Bezüglich der ungeimpften Pflanzen muß noch erwähnt werden, daß bei Versuch A bei beiden Ernten die Pflanzen aller Töpfe bis auf eine einzige knöllchenfrei waren, die infizierte Lupine trug ein großes Knöllchen an der Hauptwurzel, unterschied sich aber in der Entwicklung nicht sichtbar von den anderen, wie auch ein Vergleich der Stickstoffaufnahme der einzelnen Töpfe ergibt. Bei Versuch B waren ebenfalls bei einem Topf der ersten Ernte zwei Pflanzen an den Nebenwurzeln mit drei Knöllchen infiziert, die Stickstoffaufnahme wird hier von einem Topf, der nicht infiziert war (Topf 1 der Ernte I: Erntegewicht: 43,0 g) sogar noch erheb-

lich übertroffen. Wir haben es also, im zweiten Falle wenigstens, ziemlich sicher mit sehr schwach virulenten Bakterien zu tun.

Vergleichen wir nun die Ernteziffern, so ergibt sich, daß der verwendete Nährboden im Vergleich zu den bisher gebräuchlichen Nährmedien, die im Vorjahr zur Prüfung benutzt wurden, sich ganz hervorragend bewährt hat. Bei den gelben Lupinen sind die darauf kultivierten Bakterien in der Virulenz wohl kaum hinter den direkt von Pflanze zu Pflanze übertragenen Bakterien (Reihe IV) zurückgeblieben. Das zeigen die Erntezahlen der ersten und ebenso auch der zweiten Ernte.

Anders liegen die Verhältnisse noch bei Versuch B. Hier haben die in Reinkultur gezüchteten (Reihen II und III, Ernte I) die im Infus zugeführten Bakterien an Wirksamkeit noch ganz erheblich übertroffen. Dies wäre eine Bestätigung der von Hiltner vertretenen Anschauung, daß die Bakterien durch Züchtung auf künstlichen Nährböden eine Virulenzsteigerung erfahren und würde demnach seiner Behauptung, daß die in Reinkultur gezüchteten Bakterien die direkt übertragenen in der Virulenz übertreffen, entsprechen. Indessen sind die Reihen ja nicht einwandfrei vergleichbar, da die zur Impfung benutzten Bakterien verschiedenen Pflanzen entstammten. Diese Annahme schlägt aber auch unseren bis jetzt gemachten Erfahrungen bei der Züchtung der Bakterien außerhalb ihrer natürlichen Wachstumsbedingungen derartig ins Gesicht, daß ich mich schon aus diesem Grunde vorläufig derselben nicht anzuschließen vermag. Außerdem stehen meine Versuchsergebnisse mit dieser Annahme nicht in Einklang, ich habe außer diesem nur noch einen Fall¹⁾ bei der Pferdebohne zu verzeichnen, wo in Reinkultur gezüchtete Bakterien direkt unter Umgehung des künstlichen Nährbodens übertragene Bakterien an Virulenz übertreffen.

Die zweite Ernte des Versuches B bestätigt vollauf das Resultat der ersten, wenn auch das Verhältnis zwischen den Reihen II, III und IV eine Verschiebung erfahren hat. Hierauf komme ich weiter unten noch zu sprechen.

Vergleichen wir nun weiter die Reihen II und III untereinander, so ist weder bei Versuch A noch bei Versuch B in beiden Ernten ein Unterschied bemerkbar; die Differenzen liegen überall völlig innerhalb der Fehlergrenze. Durch mehrfache Uebertragung der Bakterien auf frischen Nährboden ist also keine Virulenzänderung²⁾ eingetreten.

In Beziehung auf die hier angeführten Versuchsergebnisse möchte ich noch im Zusammenhang mit einigen interessanten, während der Vegetation der Kulturen gemachten Beobachtungen die Ergebnisse erörtern, die aus den beiden verschiedenen Ernten hervorgehen.

Zunächst ein Wort über die Knöllchenbildung. Bei den gelben Lupinen war nur zwischen der Impferde und den anderen geimpften Reihen ein Unterschied in der Knöllchenbildung wahrnehmbar, indem in Ueberstimmung mit der Annahme einer geringeren Virulenz der Impferdebakterien bei den hiermit geimpften Pflanzen fast

1) Vergleiche Tab. I dieser Arbeit.

2) Vergl. den folgenden Abschnitt.

ausschließlich die Nebenwurzeln infiziert waren im Gegensatz zu den an der Hauptwurzel reichlich knöllchentragenden Pflanzen der anderen Reihen II, III und IV.

Bei den blauen Lupinen war noch ein weiterer Unterschied vorhanden. Hier trugen neben den Pflanzen der Reihe V auch die der vierten Reihe vorwiegend Knöllchen nur an den Nebenwurzeln. Die Ernteziffern besagen hier, daß die Bakterien, die für diese Reihe zur Impfung benutzt wurden, zweifellos weniger virulent waren wie die in Reihe II und III verwendeten. Es ist also in diesen Fällen wegen der geringeren Virulenz der Bakterien eine spätere Infektion eingetreten.

Auch in der Entwicklung, der Wachstumsschnelligkeit der verschiedenen Kulturen waren Unterschiede vorhanden, die mit dem aus der Knöllchenbildung gezogenen Rückschluß sich decken. Besonders zur Zeit der Ausbildung der Blütenorgane waren hier typische Differenzen vorhanden. Bei der gelben Lupine waren bei der ersten Ernte die Pflanzen der Reihen II, III und IV in voller Blüte, die fünfte Reihe war im Stadium der Knospenbildung, und die ungeimpften Pflanzen endlich ließen noch keinen Knospenansatz erkennen. Bei der Ernte II befanden sich die Pflanzen der Reihen II, III und IV im Stadium der Fruchtbildung, die Lupinen der fünften Reihe waren noch nicht abgeblüht, und die kümmernden Pflanzen der ungeimpften Reihe traten erst jetzt in Blüte.

Ein völlig analoges Bild boten die blauen Lupinen bei der Ernte I, nur daß hier auch in Uebereinstimmung mit den oben dargelegten Knöllchenbefund die Pflanzen der Reihe IV in ihrem Entwicklungsstadium eine Mittelstellung einnahmen zwischen den Reinkulturreihen, die wesentlich vorausgeeilt waren und der Impferdereihe, die zurückblieb. Zur Zeit der zweiten Ernte war derselbe Unterschied, jetzt besonders auffällig zwischen den Reihen IV und V, vorhanden.

In den Ernteziffern finden wir diese Erscheinungen wieder, wenn wir die Stickstoffaufnahme der Pflanzen in den verschiedenen Vegetationsperioden vergleichen, ein Vergleich, der durch die zweite Ernte im Verein mit der ersten möglich gemacht ist (vergl. Tabelle XIV p. 516).

Hier sehen wir, besonders markant bei den blauen Lupinen, daß die mit virulenten Bakterien geimpften Pflanzenkulturen bereits in der ersten Periode, d. h. in der Vegetationszeit bis zur Ernte I, den größten Teil ihres Stickstoffs aufgenommen haben, indem die Stickstoffaufnahme in der zweiten Periode, d. h. der Vegetationszeit von der ersten bis zur zweiten Ernte, nur noch außerordentlich klein ist im Verhältnis zu der ersten Periode¹⁾

Im Gegensatz hierzu ist durch die mit weniger virulenten Bakterien geimpften Pflanzen der Reihe IV und ebenso V noch eine ziemliche Stickstoffaufnahme in der zweiten Periode erfolgt, sowohl im Vergleich zu der Aufnahme der Reihen II und III in der gleichen Periode, als auch im Verhältnis zur Stickstoffaufnahme derselben Reihen in der Periode I¹⁾. Wenn man sich erinnert,

1) Vergl. die letzte Kolumne der Tabelle XIV.

Tabelle XIV¹⁾.
Versuch A. Gelbe Lupine.

Versuchsreihe	Ernte I		Ernte II		Periode I		Periode II		Stickstoffauf- nahme d. Periode II in Proz. der Aufnahme der Periode I
	Trocken- substanz g	N g	Trocken- substanz g	N g	Trocken- substanz g	N g	Trocken- substanz g	N g	
I.	18,1	0,230	20,0	0,227	—	—	—	—	—
II.	113,4	3,313	148,4	4,244	113,4	3,313	35,0	0,931	26
III.	107,2	3,189	145,1	4,243	107,2	3,189	37,9	1,054	33
IV.	120,9	3,492	158,6	4,390	120,9	3,492	37,7	0,898	26
V.	60,9	1,811	104,2	3,043	60,9	1,811	43,3	1,232	68

Versuch B. Blaue Lupine.

I.	32,9	0,525	29,9	0,379	—	—	—	—	—
II.	135,9	3,990	174,5	4,164	135,9	3,990	38,6	0,174	4
III.	132,1	3,910	176,9	4,145	132,1	3,910	44,8	0,235	6
IV.	94,0	3,061	145,9	3,769	94,0	3,061	51,9	0,708	23
V.	74,2	2,554	117,8	3,055	74,2	2,554	43,6	0,501	20

daß, wie oben erwähnt wurde, die Pflanzen der Reihe IV mehr noch der Reihe V in der Entwicklung hinter denen der anderen Reihen zurückgeblieben waren, wird diese sonst wunderbar erscheinende Tatsache erklärlich durch das relativ größere Bedürfnis für Stickstoff, das bei den unentwickelteren Pflanzen vorhanden gewesen sein wird. Diesem größeren Bedarf an Stickstoff wird dann auch — und dies ist der zweite, allerdings nur sekundäre Faktor, der diese Verschiebung in der Stickstoffaufnahme der verschiedenen Reihen bewirkt hat — durch die inzwischen gesteigerte Virulenz der in den Knöllchen in Symbiose mit der Pflanze lebenden Bakterien leichter und schneller entsprochen worden sein, als es in der ersten Vegetationsperiode bei der hier noch nicht so hohen Virulenz der eingedrungenen Bakterien möglich war.

Die Resultate des Versuches A mit gelben Lupinen bringen eine volle Bestätigung des soeben besprochenen Versuches, soweit hier die Virulenz der Bakterien verschieden war. Im Gegensatz zu den blauen Lupinen ist hier die Stickstoffaufnahme in der zweiten Periode ungleich größer und beträgt bei den mit virulenten Bakterien geimpften Pflanzen der Reihen II, III und IV, die sich untereinander kaum wesentlich unterscheiden, noch etwa ein Drittel der Aufnahme in der ersten Periode. Andererseits ist bei den mit Impferde behandelten Pflanzen die Stickstoffaufnahme auch hier absolut noch etwas größer wie bei den anderen Reihen und relativ fast 70 Proz. der Stickstoffaufnahme derselben Reihe in der ersten Periode.

1) Die Tabelle enthält die Mittelwerte der betreffenden Parallelgefäße. Periode II ist Erntemasse II weniger Erntemasse I.

Aus diesen verschiedenen Beobachtungen und Tatsachen ergibt sich demnach das beachtenswerte Resultat, daß die Entwicklungsdauer der Pflanze mit der Virulenz der bei der Impfung zugeführten Bakterien variabel ist, indem steigender Virulenz eine Verkürzung der Vegetationszeit parallel geht.

Schon die praktische Nutzanwendung, die sich aus dieser Tatsache ergibt, für sich allein gebietet die Verwendung virulenter Bakterien zur Impfung; speziell beim Stoppelfruchtbau wird man durch Benutzung virulenter Impfmateriale den höchsten Erfolg erzielen, da nur unter diesen Umständen eine relativ schnellere Jugendentwicklung der Pflanzen, verbunden mit größerer Stickstoffassimilation möglich wird.

b) Länger dauernde Kultur der Bakterien auf künstlichen Nährböden in ihrer Wirkung auf die Virulenz derselben.

Wenn man den Bakterien, wie aus den angeführten Versuchen zu ersehen ist, auch außerhalb der Pflanze Lebensbedingungen geben kann, unter denen sich ihre volle Virulenz annähernd erhält, so ist damit noch nicht die Frage entschieden, ob nicht längere Kultur ohne Symbiose mit der Pflanze eine weitgehende Abnahme der Virulenz verursacht. Ein über diese Frage angestellter Versuch wurde mit Pferdebohnenbakterien durchgeführt. Die Versuchsanordnung war derart, daß Bakterien aus Pflanzen derselben Herkunft verschieden lange auf Nährböden weitergezüchtet wurden, bis sie zur Impfung von Pferdebohnenpflanzen benutzt wurden. Außerdem kam noch eine Kultur, die seit Sommer 1901 auf Pflanzenextraktgelatine weitergeführt und demnach ein Jahr alt war, als Impfmittel einer Reihe in Anwendung.

Die Pferdebohnen wurden am 24. Juni in kleine Tongefäße gepflanzt. Die zur Impfung benutzten Reinkulturen (Nährboden: Pflanzenextraktgelatine) für die verschiedenen Versuchsreihen hatten ein Alter¹⁾ für Reihe II von 3 Tagen (Originalabimpfung aus Knöllchen), für Reihe III von 10 Tagen (erste Uebertragung auf frischen Nährboden), für Reihe IV von 15 Tagen (zweite Uebertragung), für Reihe V von 20 Tagen (dritte Uebertragung) und endlich für Reihe VI von einem Jahr. Alle Kulturen zeigten gutes Wachstum.

Die Ernte der Pferdebohnen erfolgte am 25. August. Tabelle XV (p. 518) enthält das Resultat.

Es macht sich leider bei diesem Versuch dieselbe Störung durch Standortsvielfachheit bemerkbar, wie ich sie weiter oben schon anführte, die Uebereinstimmungen der Parallelgefäße sind deshalb keine guten zu nennen. Die größte Abweichung vom Mittel beträgt 0,178 g in der Stickstoffernie. Indessen ersieht man aus den Zahlen der ersten vier Reihen II—V zunächst doch, daß eine Abnahme der Virulenz in erheblichem Maße nicht eingetreten sein kann, die Zahlen bewegen sich etwa alle auf gleicher Höhe. Eine

1) Unter Alter ist hier die Zeit zu verstehen, die seit der Isolierung aus Knöllchen verstrichen ist.

Tabelle XV.
Versuchspflanze: Pferdebohne.

Versuchsreihe	Impfmittel	Ernte in g				Bemerkungen zur Knöllchenbildung
		lufttr. Substanz	Absolute Trocken-substanz	% N in der Trocken-substanz	N	
I. ungeimpft		33,2 76,5	30,6 69,8	1,31 1,86	0,401 1,298	Ein Topf der ungeimpften Reihe stark infiziert, die Pflanzen des anderen in der großen Mehrzahl knöllchenfrei. Die infizierten Pflanzen tragen Knöllchen an den Nebenwurzeln. In den geimpften Reihen kein Unterschied in der reichlichen Knöllchenbildung.
II. Alter der Reinkultur: 3 Tage		87,0 88,6 101,0	80,3 92,1	2,59 2,53	2,080 2,330	
III. Alter der Reinkultur: 10 Tage		97,0 97,5 93,7		2,53	2,247	
IV. Alter der Reinkultur: 15 Tage		95,0 103,0 113,0	90,0 97,4 106,7	2,42 2,52 2,25	2,178 2,454 2,401	
V. Alter der Reinkultur: 20 Tage		88,0 96,0 103,0	79,7 88,6 94,8	2,63 2,58 2,58	2,096 2,286 2,441	
VI. Alter der Reinkultur: 1 Jahr		102,0 101,0 114,0	93,4 106,3	2,72 2,37	2,540 2,519	
VII. Knöllcheninfusvergleichsreihe		91,0 97,0 111,0		2,57 2,44	2,236 2,508	

Bestätigung für diese Annahme gibt dann noch die sechste Reihe, die ja allerdings mit den anderen nicht direkt vergleichbar ist, aber doch eine noch höhere Stickstoffaufnahme der Pferdebohnen ergibt, als Reihe VII. Das Ergebnis der sechsten Reihe zeigt auch noch, daß der benutzte Nährboden ¹⁾ an sich für die Kultur der Bakterien sehr geeignet ist, die Virulenzschwächung durch Uebertragung auf künstlichen Nährboden scheint demnach in diesem Fall nicht so sehr durch Unzulänglichkeit des Nährmediums als vielmehr durch den plötzlichen Wechsel in den Lebensbedingungen bei der Isolierung aus Knöllchen hervorgerufen zu werden.

Aus dem Versuch ist ersichtlich, daß auf geeigneten Nährböden die Virulenz der Pferdebohnenbakterien längere Zeit erhalten bleibt, eine Annahme, die wegen der erwähnten Mängel des Versuches nur auf Grund des Resultates der sechsten Reihe zulässig erscheinen muß und auch mit diesbezüglichen Untersuchungen Hiltners ²⁾ mit der Sojabohne in Einklang steht.

1) Pflanzenextraktgelatine.

2) Arbeiten aus der biol. Abt. des kais. Gesundheitsamtes Bd. III. Heft 3. p. 280.

Schluß.

In der vorstehenden Arbeit habe ich versucht, einen Ueberblick über den heutigen Stand der Forschung auf dem Gebiete der Knöllchenbakteriensymbiose zu geben. Es ist klar ersichtlich, daß das Studium der Virulenzverhältnisse dieser Bakterien uns schon jetzt viele neue Kenntnisse und manchen schätzenswerten Fingerzeig gegeben hat. Die Erfahrungen, die hierbei gesammelt sind, lassen auch schon in der praktischen Nutzanwendung einen Erfolg erkennen. Besonders Hiltner hat in den letzten Jahren ausgedehnte Impfversuche im Freiland angestellt, die anfangs¹⁾ nicht ganz ohne Erfolg, neuerdings²⁾ sogar mit einem recht günstigen Ergebnis verlaufen sind, indem nahezu 60 Proz. aller Versuche einen Impferfolg aufzuweisen hatten. Wenn man die Schwierigkeiten berücksichtigt, die sich bei Feldimpfversuchen, namentlich in Gestalt ungünstiger Witterungsverhältnisse einstellen, dann ist schon dieses Resultat zufriedenstellend.

Auch im hiesigen Institut wurde im Jahre 1902 auf dem Versuchsfeld ein Impfversuch mit Pferdebohnen durchgeführt, der ebenfalls ein recht günstiges Ergebnis hatte³⁾.

Aber ich möchte zum Schluß doch noch auf ein Moment hinweisen, das meiner Ansicht nach von ausschlaggebender Bedeutung sein kann, ohne indessen bis jetzt genügend gewürdigt zu sein. Die Impfung, so wie sie neuerdings angewendet und empfohlen wird, wie sie auch schon seinerzeit mit dem Nitragin ausgeführt wurde, erfolgt derart, daß ein Kulturröhrchen zur Impfung etwa eines Morgens ausreichen soll. Das ist meiner Ansicht nach ganz erheblich zu wenig Bakterienmasse. — Zwar haben Nobbe und Hiltner bei der Impfung mit Reinkulturen nachweisen können, daß ein Unterschied in der Impfmenge von 1:10000 ohne sichtbaren Einfluß auf die Förderung der Pflanze blieb, aber es ist zu berücksichtigen, daß gerade derartige Versuche in sterilisierten Gefäßen und Feldimpfungen auch nicht annähernd vergleichbar sind.

Man muß bei der feldmäßigen Impfung mit Reinkulturen bedenken, daß die Bakterien zunächst bis dahin auf einem sehr nährstoffreichen Medium gewachsen sind und jetzt plötzlich in unvergleichlich viel ungünstigere Bedingungen gebracht werden. Einmal finden sie im Boden nicht die Energiequellen, die ihnen auf den Nährmedien geboten wurden. Außerdem, und dies ist der wichtigere Punkt, haben sie bei der Aneignung der Energiestoffe mit anderen Mikroorganismen in Wettbewerb zu treten und sind auch eventuell den Schädigungen durch andere Mikrobien ausgesetzt.

1) Vergl. Hiltner und Störmer, Arbeiten der biol. Abt. des kais. Gesundheitsamtes. Bd. III. Heft 3. p. 167 f.

2) Von Hiltner mitgeteilt in einem Vortrag auf dem V. Internationalen Kongres für angewandte Chemie in Berlin.

3) Bericht über die Tätigkeit der erdbakteriol. Versuchsanstalt der Landwirtschaftskammer für die Provinz Brandenburg im Jahre 1902 von Prof. Dr. H. Remy. Sonderabdruck aus „Der Landbote“. Organ der Landwirtschaftskammer f. d. Provinz Brandenburg.

Dazu kommt sodann die nicht zu unterschätzende Gefahr, daß durch ungünstige Feuchtigkeitsverhältnisse ein beträchtlicher Teil der asporogenen Bakterien vernichtet werden kann, und gerade die Knöllchenbakterien scheinen gegen Austrocknen sehr empfindlich zu sein.

Dies sind meiner Meinung nach Momente, die es geboten erscheinen lassen, mehr Kultur zur Impfung zu verwenden, und es ist unter Berücksichtigung dieses Umstandes eher zu erwarten, daß dann die Fälle, in denen eine Impfung ohne Erfolg beibt, mehr eingeschränkt werden.

Nachdruck verboten.

A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment.

By **Mary Hefferan, Ph. D.,**

Bacteriological Laboratory, the University of Chicago, U. S. A.

(Schluß.)

In the endeavor to do away with agar and still have a solid medium for pigment production, the following mixtures were employed, and gave interesting comparative results. The flour and starch were cooked, poured into Petri dishes, sterilized by discontinuous method, and inoculated.

Table V.

	Rice flour 35 %, Pept. 1 %, water		Starch 10 %, Pept. 1 %, water		Starch 10%, water	
	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.
<i>B. prodigiosus</i> I	good	red	good	red	slight	slight,
<i>B. ruber balticus</i>	fair	dark red	luxuriant	intense	thin	pink
<i>B. kiliensis</i>	good	red	spreading	red luster	spreading	pink
<i>B. ruber miquel</i>	good	red	good	red	"	pink
<i>B. rutilus</i>	fair	red	luxuriant	violet red	slight	red
	good	dark red	"	cream	—	—
<i>B. amylo ruber</i>	good	violet red	luxuriant	white		
			spreading	intense	spreading	pink
				violet red		
				luster		

Rice flour, which gave luxuriant growth when used with bouillon by Schneider (19) and Petrow (58), gives good pigment, but rather a thin dry layer when bouillon is omitted.

The similarity between *B. ruber balticus* and *B. kiliensis* was brought out by their development on starch and water. On the other hand *B. prodigiosus*, *B. ruber miquel*, and *B. rutilus* scarcely developed at all on cooked starch, but with the addition of 1 % peptone gave a luxuriant growth. *B. rutilus* was

peculiar here in its absence of pigment, while *B. amylo ruber* for the first time produced, in addition to its usual vivid dark red color, a distinct green metallic luster. The development of this organism was evidently at its height of luxuriance on the starch-peptone medium. Considerable liquefaction of the solid starch also took place, an evidence of the production of a diastatic ferment by *B. amylo ruber*. After two weeks the semi-solid mass on this plate was rubbed up in distilled water, filtered germ free and tested. 12 ccm peptonized 5 ccm of 10 % gelatine and water in two hours at 37° C. A half inch cube of 10 % cooked starch was not liquefied by the filtrate in 24 hours at 37° C, and I am unable to adduce any evidence, other than that of the first observation, for the presence of diastase. Fermi (22), and Gorini (41) give negative results as regards diastatic ferments from *B. prodigiosus* and "*B. ruber*".

c. Non-proteid media.

The value of the above experiments as to the affect of sugars could only be tested by their repetition with non-proteid media, where all the elements which go to make up the nutritive supply of the organisms are definitely known. The only investigations of this sort hitherto undertaken for red chromogenic forms have been upon *B. prodigiosus* and *B. kiliensis*. Those upon the latter organism, by Laurent (57), were carried out mainly to test the effect of acid in the medium, and led Laurent to the conclusion that an alkaline reaction was most favorable to growth and pigmentation. But since in every case Laurent used media which contained either saccharose or glycerine, and in which the initial alkaline reaction had only the effect of neutralizing the acid produced by the organism from these substances, his results prove nothing definite as to the reaction best for non-fermentable media. As, also, the results of Kuntze (46), Noesske (18), Luckhardt (16), and Sullivan (20) upon *B. prodigiosus* in non-proteid media have disagreed, the following tables of experiments on the *Prodigiosus* series will be of interest¹).

(See Table VI p. 522.)

These series bring out interesting results in the behavior of the cultures. In standard asparagin solution (Sol. A), *B. prodigiosus* I, tested five times, and *B. prod.* II--VI and VIII, tested twice, grew luxuriantly, i. e., showed dense white cloudiness, but showed no trace of pigment. *B. ruber balticus*, *B. plymouthensis*, *B. rutilus*, and *B. No. 18* gave the same results, except that *B. rutilus* developed less cloudiness. On the other hand *B. prod.* VII, *B. ruber indicus* I and II, *B. ruber miquel*, and *B. amylo ruber* produced a good red coloration of the medium, but none grew luxuriantly. except *B. ruber miquel* and *B. prod.* VII.

1) The water used in these solutions was redistilled in glass. The inoculations were made in flasks of Jena glass previously cleaned in acid and rinsed repeatedly in distilled water. The reaction was neutral to phenolphthalein.

Table VI.

	Sol. A.		Sol. B.		Sol. C.		Sol. D.		Sol. E.		Sol. F.	
	Asp. 0,2 % MgSO ₄ 0,1 % K ₂ HPO ₄ 0,1 %		Asp. 0,2 % K ₂ HPO ₄ 0,1 %		Asp. 0,2 % MgSO ₄		Asp. 0,2 %		Asp. 1,0 % MgSO ₄ 0,1 % K ₂ HPO ₄ 0,1 %		Asp. 0,2 % MgSO ₄ 0,1 % KHPO ₄ 0,1 % Glycerine 2,0 %	
	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.
B. prod. I	++	—	+	—	—	—	—	—	++	5 da. tr.	15 days	++
B. „ II	++	—	+	—	—	—	—	—	++	5 da. tr.	++	—
B. „ III	++	—	+	—	—	—	—	—	++	5 da. tr.	++	—
B. „ IV	++	—	+	—	—	—	—	—	++	—	++	—
B. „ V	++	—	+	—	—	—	—	—	++	—	++	—
B. „ VI	++	—	+	—	—	—	—	—	++	—	++	—
B. „ VII	++	48 hrs.	+	48 hrs.	—	—	—	—	++	48 hrs.	++	—
		+		+						+		
		3 da. ++								3 da. ++		
B. „ VIII	++	—	+	—	—	—	—	—	+	6 da. tr.	++	—
B. rub. ind. I	+	48 hrs.	+	++	+	++	+tr.	++	++	—	++	—
		+										
		3 da. ++										
B. „ „ II	+	48 hrs.	+	++	+	++	+tr.	++	+	48 hrs.	++	—
		+								+		
		3 da. ++										
B. rub. balt.	++	—	+	—	—	—	—	—	++	3 da. +	++	—
B. „ plym.	++	—	+	—	+sl.	—	—	—	++	—	++	sl.
B. „ miquel	++	+	+	—	—	—	—	—	+	+ sl.	++	—
B. rutilus	+	—	+	—	+sl.	—	—	—	++	—	++	—
B. amylo-	+	15 days	—	—	+sl.	—	+?	—	sl.	15 days	+	—
ruber		++								+		
B. No. 18	++	—	+	—	—	—	—	—	++	—	+	—

In the next series (Sol. B), MgSO₄ was eliminated from the medium in an attempt to determine whether this substance be necessary for the elaboration of red bacterial pigment, as has been shown for the fluorescent pigment. Nearly all the cultures developed, although less readily than in Sol. A; three of them, *B. ruber indicus* I and II, and *B. prodigiosus* VII, although showing scarcely any cloudiness, colored the solution a beautiful red in 48 hours. With these three cultures which gave pigment in the absence of MgSO₄ further tests were made. A pure 0,2 % solution of asparagin was prepared, and flasks were inoculated by touching the surface of an agar plate colony with a fine needle, or from a growth in Sol. B. In each case *B. ruber indicus* I and II produced no distinguishable cloudiness of the solution, but slowly and gradually colored it as deep a red as they did the standard solution. *B. pro-*

digiosus VII failed to show pigment here, and control cultures of *B. ruber balticus* and *B. ruber miquel* also remained perfectly clear and colorless.

These results point toward one of two conclusions. Either the pigment of some cultures of what is here designated as the *Prodigious* group has a different chemical basis from that of others of the group, or on the other hand, great variation occurs among these cultures in their ability to elaborate the same pigment out of the same synthetic material. The results of chemical and spectroscopic analysis of the pigments of *B. prodigious*, *B. ruber balticus*, and *B. ruber indicus* (19), (45), (49) give us no reason to believe that they are essentially different. Further, the fact that some cultures do not produce pigment in a 0.2% asparagin solution even in the presence of MgSO_4 , while others beside *B. ruber indicus* have this power, indicates a continuous, rather than a discontinuous variation of the ability to elaborate pigment. Whatever the cause of this may be, it appears from my results to the present time that the different strains or varieties are very constant in their ability or non-ability to form pigment in the above solutions, whether the latter be inoculated from young or old cultures on various media.

In his work on *B. prodigious*, Kuntze used 1–2% asparagin and 0.1–0.2% K_2HPO_4 , obtaining pigment if MgSO_4 were added in smallest crystals. In order to determine whether lack of pigmentation in my series was due to an insufficiency of the organic compound, I increased the asparagin content to 1%. The first trial added *B. ruber balticus* only to the list of color producers. A second set of flasks was inoculated from five day potato cultures, with the result that *B. prod.* I–III developed a slight trace of pigment. Growth was most luxuriant for all the cultures in this solution, but on the other hand *B. ruber indicus* I lost its power of producing color by the concentration of the medium.

Standard asparagin solution with the addition of 2.0% glycerine allowed luxuriant growth, but of the whole series *B. plymouthensis* only showed a slight trace of pigment.

It seems evident from these experiments that the conclusions drawn by Kuntze and Noesske regarding the necessity of MgSO_4 for pigment formation, and of phosphorus for growth, in the case of *B. prodigious*, do not hold for all of the various strains going under this name. Out of eight strains three did not form pigment even under these conditions, although all were cultures in the height of vigor; one culture produced pigment in the absence of one, and two strains of a closely related form in the absence of both the above substances.

The more luxuriant development of some of the non-pigmented cultures in comparison with the slighter growth of other colored ones, notably *B. ruber indicus*, seems to confirm the statement made by Noesske and quoted previously in this paper. Further light upon the subject of correlation of chromogenesis and growth, as well as upon the effect of the presence of carbohydrate in the nutritive medium, was obtained by the following experiments.

Table VII.

	Sol. H.		Sol. I		Sol. K	
	Asp. 0,2 % MgSO ₄ 0,1 % K ₂ HPO ₄ 0,1 % Dextrose 1,0 %		Asp. 0,2 % MgSO ₄ 0,1 % K ₂ HPO ₄ 0,1 % Lactose 1,0 %		Asp. 0,2 % MgSO ₄ 0,1 % K ₂ HPO ₄ 0,1 % Saccharose 1,0 %	
	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.
B. prod. I.	++	tr. 4 da.	++	—	++	—
B. prod. II	++	tr. 8 da.	++	—	++	—
B. prod. III	++	tr. 3 da.	++	—	++	tr. 3 da.
B. prod. IV	++	— 4 da.	++	—	++	—
		+ 15 da.				
B. prod. V	++	+ tr. 3 da.	++	—	++	+ tr. 3 da.
		tr. 15 da.				
B. prod. VI	++	tr. 8 da.	++	—	++	+ 8 da.
B. prod. VII	++	+ tr. 4 da.	++	+ 3 da.	++	+ 4 da.
		++ 15 da		+ tr. 15 da.		++ 15 da.
B. prod. VIII	++	+ tr. 4 da	++	—	++	+ tr. 8 da.
B. rub. ind. I	++	—	+	++	++	—
B. rub. ind. II	++	+ 8 da.	+	++	++	—
B. rub. balt.	++	+ 3 da.	++	—	++	+ tr.
B. rub. ply.	++	+	sl.	—	++	+
B. rub. miquel	++	+ 3 da.	sl.	+ 4 da.	++	+
				++ 8 da.		
B. rutilus	+	+ 8 da.	+	—	++	—
B. amyloruber	++	+	+	+	++	—
B. No. 18	++	—	++	—	++	—

When this table is compared with Table VI the similarity of results with Sol. E and Sol. H is at once noticeable, the presence of dextrose producing much the same effect as the concentration of the medium by increasing the asparagin content. With the addition of dextrose to a standard asparagin solution growth is luxuriant in all cases, but although there is an increase of pigment production over Sol. A, where in most cases there was none at all, still the amount of pigment for B. prod. I—VI and VIII is at most only a trace. On the other hand, B. prod. VII shows a development of pigment, which at the end of fifteen days is as strong as in the standard solution in three days; and B. ruber indicus I and II show, as in Sol. E, more luxuriant growth with a lessening of pigment production.

Comparing the effect of the different carbohydrates, we see that saccharose behaves on the whole like dextrose, although in some cases the pigment failed to appear in Sol. K, where it did appear in Sol. H. Lactose gives quite different results. In fact, Sol. I containing lactose behaves exactly like Sol. A with no carbohydrates, i. e. pigment is produced with B. prod. VII, B. ruber indicus I and II, B. ruber miquel and B. amyloruber only, these, with the exception of B. prod. VII, showing less luxuriant growth than the rest of the series. This seems an exceedingly interesting result, and falls in line with the conclusion drawn from Table IV, where the color of the pigment gave evidence of the peculiar lack of effect of the presence of lactose.

It is difficult, even here, to arrive at any general conclusion in regard to the relation of growth luxuriance and pigment luxuriance. As has just been stated, the majority of the cultures showing pigment in Sol. I have grown less luxuriantly than the others. The same thing was true with Sol. A. Again, *B. ruber indicus* I and II tended to lose entirely their power to form pigment when the growth luxuriance was increased by concentrating the medium or by adding glycerine or sugar.

These facts, taken in connection with that of less massy growth and more vivid pigment on peptone agar as against the more complex meat peptone agar, seem to argue in confirmation of Noesske's and Woolley's views. On the other hand, Sol. H, in which dextrose induces luxuriant growth, shows pigment, though only traces of it, in fourteen cases, against four cases in Sol. A without dextrose. It may be that here the sugar contributes chemical or physiological aid to pigment formation as well as to vegetative luxuriance. The contrary effect of glycerine points to this conclusion, since here we have luxuriant growth without pigment.

In this connection also, some of the atypical cultures which have virtually lost the power of forming pigment are interesting. Both *B. fuchsinus* and *B. miniaceus* III were among the most vigorous strains of the series in rapidity and amount of development. *B. rubrus* and *B. kiliensis* II, although colorless, had lost none of their vigor in the fermentation of sugar to gas formation, or in the liquefaction of gelatin or coagulation of milk. These facts do not support, then, Galeotti's second conclusion, that the conditions of life which affect the chromogenic power are generally those which have an unfavorable influence upon the bacteria themselves in all their functions.

d) The effect of light upon pigment production.

Following the methods of Buchner and of Marshall Ward, Dieudonné (13) confirmed the simpler experiments of Galeotti (15) regarding the effect of light upon bacterial chromogenesis. He used *B. prodigiosus* and *B. fluorescens*, and found that the direct sunlight of March, July, and August hindered development in half an hour, while 48 hours of exposure entirely prevented pigmentation and trimethylamine production. *B. prodigiosus* also liquefied gelatin more feebly. Eleven hours of incandescent electric light killed both organisms. According to Dieudonné's investigations, these effects were produced by the light and not by the heat rays, the violet and ultra violet rays being the destructive agents, and the red and yellow rays having no effect. The injury is chiefly to the germs themselves, the chemical change produced in the medium being a very small factor. Similar results were obtained with *B. coli*, *B. typhosus*, and *B. anthracis*, confirming those of Ward, who, however, limits the injurious effect to the violet end of the blue, the actinic rays.

Beck and Schultz (14) criticised Dieudonné's methods, and

observed no injury to the development of *B. prodigiosus*, *B. pyocyaneus* etc., from exposure to colored light, though in some cases there was an influence upon chromogenesis (2—3 days). Diffuse daylight was beneficial, darkness sometimes proving injurious, (*Staphyl. pyog. aureus* and *B. fluorescens*). Direct sunlight (3 days) produced colorless cultures.

The results of Beck and Schultz do not seem very conclusive; the non-effect of the colored light may have been due to the slight intensity of the rays which passed through their light filters. In a recent paper Oliver (17) used colored glass plates.

A simple comparative study as to the effect of direct sunlight upon a series of my organisms gave the following results. One loopful-inoculations were made upon slant agar from 18 hour bouillon cultures which had been grown in the dark; these were used as controls. The cloudy bouillon cultures were then exposed to the March sunlight (according to Dieudonné as effective as that of July), and similar agar slant cultures inoculated at intervals. These agar cultures were then grown in the dark and examined after 24 hours, 48 hours, and ten days. The results are appended.

Table VIII.

	24 hours' growth after exposure to sun of							
	0 min.		5 min.		15 min.		30 min.	
	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.	Gr.	Pigm.
<i>B. prod. I</i>	++	—	+	—	++	—	++	—
<i>B. ruber balt.</i>	++	—	+	—	++	—	+++	—
<i>B. ruber miq.</i>	++	—	dotted	—	dotted	—	dotted	—
<i>B. rutilus</i>	++	—	+	—	++	—	+	—
<i>B. amylob. rub.</i>	++	—	+	—	++	—	+	—
<i>B. rosac. metall.</i>	+	sl.	—	—	—	—	—	—
48 hours growth after exposure to sun								
<i>B. prod. I</i>	++	++ red	+	pink	+	pink	+	pink
<i>B. ruber balt.</i>	++	++ red	++	pink	++	+ pink	++	pink
<i>B. ruber miq.</i>	++	++ red	++	orange red	++	orange red	++	pink
<i>B. rutilus</i>	++	++ red	++	+ slight red	++	pink	++	pink
<i>B. amylob. rub.</i>	++	++ red	++	++ red	++	+++ red	++	+ red
<i>B. rosac. metall.</i>	++	orange	+	—	+	—	+	—
10 days growth after exposure to sun								
<i>B. prod. I</i>	++	++ red	thin	pink	thin	pink	thin	pink
<i>B. ruber balt.</i>	++	++ red	thin	pink	thin	pink	thin	pink
<i>B. ruber miq.</i>	++	++ red	++	++ red	++	+ red	++	+ dull red
<i>B. rutilus</i>	++	++ red	thin	pink	thin	pink	thin	pink
<i>B. amylob. rub.</i>	++	++ dark red	++	++ dark red	++	++ dark red	++	++ dark red
<i>B. rosac. metall.</i>	++	++ orange	++	++ orange	+	+	thin	pale
48 hours after 2 hours exposure to sun.								
<i>B. prod. I</i>	Growth normal,		pigment faint pink					
<i>B. ruber balt.</i>	" thin,		" faint pink					
<i>B. ruber miq.</i>	" very slight,		" slight					
<i>B. rutilus</i>	" normal,		" faint pink					
<i>B. amylob. rub.</i>	" thinner		" normal					
<i>B. rosac. metall.</i>	no development							

From the tables it will be seen that the 24 hour cultures presented a curious developmental result. The cultures of *B. ruber balticus* which had been made after 30 minutes' exposure to the sun showed more development than the control, while the other exposures exhibited a comparative decrease of effect, a 5 minutes' exposure giving less growth than one of 15 minutes. Greater development of a 15 minutes' exposure as compared with one of 5 minutes was also shown by *B. prodigiosus*, *B. ruber miquel*, and *B. amylo-ruber*, so that the possibility of an accidental mechanical error, e. g., the transference of a loopful of germs crowded at one side of the tube by heliotaxis, was excluded from consideration. The experiment was repeated for *B. ruber balticus*, *B. rutilus*, and *B. amylo-ruber* with the same results.

A possible explanation of the phenomenon may be suggested. Gotschlich (5) has remarked that brief exposure of a culture to an injurious influence may react beneficially to the culture as a whole, by cutting out the weaker organisms, and leaving only the "Ausnahmezellen"; that is, that there may be selective death-rate. On this supposition the first effect of the sunlight was the destruction of a great number of the less resistant organisms, which accounts for the slighter mass-development of the cultures after the 5 minute exposure. For the remaining and more resistant cells we must then assume that the actinic effect of a 15 minute exposure was stimulating, promoting cell division, somewhat as exposure to increased osmotic pressure¹⁾ or to lack of oxygen, to heat, etc., induces it in unfertilized parthogenetic eggs. As the eggs in these experiments, must be exposed only briefly and then returned to their normal environment if maximal results are to be obtained, so with the bacterial cells. The accelerating effect of the sunlight on growth does not seem to be an enduring one, for later observations upon the same cultures show that development is in reality permanently hindered; as much, in the case of *B. prodigiosus*, *B. ruber balticus*, and *B. rutilus*, by 5 minutes exposure as by one of 30 minutes, and nearly as much by 5 minutes as by one of 2 hours.

The pigmentation of *B. amylo-ruber* and *B. ruber balticus* also showed, in the 48 hour agar culture, a distinctly better color after the 15 minute exposure. The chromogenesis of the others of the series was markedly decreased by a 5 minute exposure, and only *B. ruber miquel* showed any recovery after ten days. The greater resistance of *B. amylo-ruber*, which was as brilliantly pigmented after two hours' exposure to the sun as at first, was probably due to its recent isolation from river water.

No attempt was made to determine the further history of these cultures.

1) Laeb, J., Further Experiments on Artificial Parthenogenesis and the Nature of the Process of Fertilization. (Amer. Jour. of Physiol. IV. 1900. p. 178.) — Matthews, A. P., Some Ways of Causing Mitotic Division in Unfertilized *Arbacia* Eggs. (Amer. Jour. of Physiol. IV. 1900. p. 343.)

4. Summary.

The experimental and comparative work done on these cultures of pigment bacteria may be roughly summarized as follows:

1) Notwithstanding the occasional loss of power of pigment production by a previously chromogenic organism, the character of the pigment is markedly constant among red chromogenic bacteria. By constancy is here understood the appearance of pigment of definite color upon nutritive media of known composition and under defined environmental conditions.

2) A collection of about forty red cultures selected at random fell readily into four main groups, according to slight but constant differences in the character of the pigment as determined by a standard color scale.

3) Sports, or discontinuous variations, such as white or light colored colonies on a plate, viscosity of growth etc. sometimes occur. In general however the so-called important biological characters are not subject to discontinuous variation.

4) Considerable normal variation in biological characters is seen among the members of the *Prodigiosus* group on ordinary media. In many cases this does not exceed the variations shown by a series of inoculations made from the same culture. It was noticeable that although gas production varied for most of these organisms, the ratio of CO_2 to the total gas remained comparatively constant.

5) Within comparatively narrow limits the pigment color of the *Prodigiosus* group may be altered by changing the composition of the nutritive medium.

6) Also by variation in the composition of the nutritive medium, cultures usually distinct from one another in pigment character can be made to approximate, e. g. to change from orange to violet red; or to assume pigment qualities previously foreign to them. e. g. metallic luster. The former characters are regained upon transference to the original medium.

7) There is a tendency to violet red pigment in more acid, to orange red in more alkaline media.

8) Dextrose and saccharose in peptone agar medium favor pigment formation much more than does lactose.

9) The ability or non-ability to produce pigment in non-proteid media is a particularly constant character for each of the different members of the *Prodigiosus* group; but strains which are otherwise approximate in biological characters may differ in this ability.

10) Two strains in the *Prodigiosus* group, viz. *B. ruber indicus* I and II, differed from all the others in the ability to produce pigment in pure asparagin solution, without MgSO_4 or K_2HPO_4 .

11) The effect upon pigment production of adding dextrose and saccharose to a standard asparagin solution is similar to that of

concentrating the solution by increase of asparagin contents. Here again, lactose is shown to be without effect upon pigment.

12) There is probably little or no correlation between luxuriance or vigor and the power of pigment formation. Hence pigment production does not appear to be essential to the life-processes of an organism.

D. Notes on Groups of Red Chromogenic Bacilli.

The division into groups of the pigment bacteria by means of the color scale falls in closely with the division according to other biological characters as shown by the species description table. Aside from the differentiation made in the discussion of pigment production above, the inter-relationship of the members of some groups may be briefly described as follows:

I. The *Prodigiosus* group.

A. Gelatin liquefied.

1. No gas in dextrose, lactose, or saccharose.
B. prod. VIII, B. amylo-ruber, B. fuchsianus.
2. Gas in dextrose only.
B. prod. I, II, III.
3. Gas in dextrose and saccharose only.
B. prod. IV, VI, VII, B. ruber indicus I, II,
B. rutilus.
4. Gas in dextrose, lactose and saccharose.
B. prod. V, B. plymouthensis, B. miniaceus, B.
kiliensis.

B. Gelatin not liquefied.

1. Gas in dextrose only.
B. ruber miquel.

II. The *Lactis erythrogenes* group.

The members of this group are characterized by the production of soluble red pigment. The appended table shows also some intermediary forms described by Dyar (loc. cit.).

	Mod.	Sol. red. pig.	Insol. pig.	Gel. liq.	Agar gr.	Milk	Gr. at 37 $\frac{1}{2}$ °
1) B. lactis ery. I	—	agar, gel. and milk	yellow	+	lux. soft	coag. alk.	—
2) " " " II	—	" " " "	pale yel.	+	" "	" "	—
3) Bery. rugat. Dyar	—	" (Dyar)	yellow	+	folded	" "	—
4) B. helvolus Zimm.	—	" "	"	+ slowly	lux. soft	—	?
5) " " granul. Dyar	—	" "	pale yel.	+	granular	—	?
6) B. rubefaciens	+	gel. and agar	yellowish in gel.	—	smooth	coag. acid.	—
7) " lactorubef.	+	+ milk	white	—	"	" "	—
8) " rutilescens	+	gel. and agar	"	+	lux. smooth	" "	+

Zweite Abt. Bd. XI.

34

A culture from Král of *B. roseofluorescens* Tataroff, which is said by Migula to be identical with *B. lactis erythrogenes*, was evidently atypical, showing thin white growth and no pigment. It was non-motile, non-liquefying, and had no effect upon milk.

Table

Name of Organism	Source	Morphology				Cultural Features										Bio	
						Nutrient broth tube		Nutrient agar tube		Gelatine plate	Gelatine stab			Potato tube			Fermentation tube
		Bacillus	Diam. greater than 1 μ	Motile	Spores	Scum	Turbidity	Dull	Wrinkled	Charac- teristic appa- rance	Deen funnel	Surface growth	Needle growth	Vesible	Luxuriant		Growth in closed arm
B. prodigiosus I, II, III		+	—	+	—	±	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. prodigiosus IV, VI, VII		+	—	+	—	±	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. prodigiosus V		+	—	+	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	
B. " " VIII		+	—	+	—	±	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. ruber indicus I, II		+	—	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. ruber plymouth- ensis I, II, III		+	—	+	—	±	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. kiliensis, B. ruber balticus		+	—	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. miniaceus I, II, III		+	—	+	—	±	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. rutilus		+	—	+	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. amyloruber		+	—	+	—	—	+	—	±	+	+	+	+	+	+	+	
B. fuchsinus		+	—	+	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	
B. ruber miquel		+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	
B. rubricus		+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	—	±	—	—	
B. rufus		+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	—	+	—	—	
B. ruber Zimmermann		+	—	+	—	+	—	—	—	+	—	+	—	+	—	—	
B. havaniensis		+	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+	—	±	—	—	
B. lactis erythrogenes I, II		+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	
B. rubefaciens		+	—	+	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	
B. lactorubefaciens		+	—	+	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	
B. rutilescens		+	—	+	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	+	
B. mycoides roseus		+	—	+	—	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	—	
B. mycoides coral- linus		+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	—	
B. latericeus (?)		+	—	—	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
B. ruber pertinctus		+	—	—	—	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	—	
B. rosaceus metalloides		+	—	—	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	—	—	
B. mesentericus ru- ber, I, IV		+	—	+	+	+	+	—	—	+	—	+	+	+	+	—	

These cultures were of interest because they are typical forms of a group of red chromogenic organisms quite different from the *Prodigiosus* group. I have no doubt that the whole series of small and non-motile, non-liquefying, slow growing red forms, i. e.

IX.

[illegible]

34*

Tabelle

Name of Organism	Source	Morphology				Cultural Features										
						Nutrient broth tube		Nutrient agar tube		Gelatine plate	Gelatine stab		Potato tube		Fermentation tube	
		Bacillus	Diam. greater than 1 μ	Motile	Spores	Scum	Turbidity	Dull	Wrinkled	Characteristic appearance	Deep funnel	Surface growth	Needle growth	Visible	Luxuriant	Growth in closed arm
B. rubidus (Eisenberg)	water	+	—	+	—	+	+	—	—	+	—	+	+	+	—	+
B. ruber aquatilis (Lustig)		+	—	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	
B. sardinae (Du Bois St. Sévrin)		+	—	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	
B. carneus (Tils)	water	+	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—
B. ruber Berolinensis (Fränkel)		+	—	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	
B. subfureus (Holzschewnikoff,		+	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	
B. sulfulvus (Matzschita). B. tuberigenus 4, (Gonnermann)	pus	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. pneumonicus agilis (Schon)		+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B. viduali (Matzschita) (B. Vignal)		+	—	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	
B. liquefaciens communis (Sternberg)	pus	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. pyocinnabareus (Ferchmin)		+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	
B. Thévenin		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B. ruber lactis (Conn)	pus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. rubiginosus (Kern)		+	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	
B. tuberosus (Kern)		+	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	+	+	—	
B. rubescens (Zimmermann)	water	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—	+	+	dry	—	—
B. velatus (Matzschita)		+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	—	
B. colere laterum		+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	+	—	
B. exiguus (Wright)	air	+	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	—	—
B. haematoides (Wright)		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	
B. epsilon (Dyar)		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	
B. zeta (Dyar)	air	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. delta (Dyar)	water	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
B. ferrugineus (Dyar)	air	+	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—
B. finitimus ruber (Dyar)		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. salmoneus (Dyar)		+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

X.

logy

[illegible]

Table X

Name of Organism	Source	Morphology				Cultural Features											
		Bacillus	Diam. greater than 1 μ	Motile	Spores	Nutrient broth tube		Nutrient agar tube		Gelatine plate	Gelatine stab		Potato tube		Fermentation tube		
						Scum	Turbidity	Dull	Wrinkled	Charac- teristic appea- rance	Deep funnel	Surface growth	Needle growth	Visible	Luxuriant	Growth in closed arm	
B. rhodochrous Overbeck (Dyar)		+	—	—		—		—	—	—							
B. rubefaciens pyogenes (Matzuschita)		+	—	+	—	+	+	—	+		—	+	+	+	+		
Bact. rubrum (Migula)		+	+	—	—			—	—	+							
Bact. erythromyxa Zopf (Migula)		+	—	—	—		+	—	—	+				+	—		
B. rubescens (Jordan)		+	—	—	—	—	—	—	—	—				—	—		
Bact. carnosum (Kern)		+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+				
Bact. roseum (Losski)		+	—	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	rose		
B. nitrogenes (Matzuschita)																	
B. denitrificans II, Burri and Stutzer)		+		+	—	+	+	—		+	—	+	+	+	+		
B. rubescens (Matzuschita)																	
(B. oogenes hydrosulfureus j. Zörkendörfer)		+	—	+	—	+	—	—	—		—	+	+	+	+		
B. subrubiginosus (Maschek)		+		+											+		
B. lupini (Matzuschita)		+		+											+		
B. pseudomycoides (Migula)		+		—	+			—	—	+		+	+				
B. coccineus (Pansini)		+		—	+	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+		
B. rubellus (Okada)		+	—	+	+		+			+	—	+	+				
B. thermophilus liquef. aërobicus (Oprescu)		+		—	+	+	+								+	+	
B. thermophilus liquef. tyrogenes (Oprescu)		+		—	+	+	+	—	+						+	+	
B. mycoides ruber (Matzuschita)		+		+	+										+	+	
B. Danteci (LeDantec)		+			+										+	—	
B. apicum (Cane-strini)		+		+	+										+		
B. rubiginosus (Cattaneo)		+	—	+	+	—	—			+	—	+	+	+	+		
B. subcoccineus (Cattaneo)		+	—	+	+	—	—			+	—	+	+	+	+		
B. kermesinus (Tataroff)		+	+	+	+		+	+	+	—		+		+	—		
B. rosaceus margarineus (Jolles and Winkler)		+	—	+	+		+	—	—	+	—	+	—	+	+		
B. subrubeum (Kern)		+		—	+		+	—	—								

continued.

logy

Biochemical Features															Pathogenesis		
Grows at body temperature	Facultative anaërobe	Affected by range of reaction	Liquefaction			Gas production			Nitrate reduced	Indol produced	Milk			Fecal odor	Nutrient agar tubes		Mice
			Gelatine	Casein	Blood serum	Dextrose broth	Lactose broth	Saccharose broth			Curdled	Acid	Alkaline		Chromogenesis	Fluorescence	Intra-peritoneal inoculation
+			—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—		pink		+
+	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		red		
+	+		—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—		red pink		
+			—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—		Flesh rose	red	
—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		red		
+	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		reddish		
+	+		+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	—		red		—
+55°	+		+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—		red		
+	+		+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—		red		
+	+		+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—		red		
+	+		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		red		path. for bees
+			—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—		orange		—
—	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		red		
			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		rose		

distinct from *B. ruber miquel*, are much more closely related than the members of the *Prodigosus* group, if they are not all identical. This includes six forms isolated and described by Dyar, *B. zeta*, *B. delta*, *B. ferrugineus*, *B. salmoneus*, *B. B. rhodocrous* Overbeck, *B. finitimus ruber*, *B. haematoides* Wright etc. Some of these are recorded as liquefying gelatin slowly or very slowly. The pigment ranged from salmon pink and orange to red. Milk is either unchanged or alkaline.

I desire to express my grateful thanks to Professor Edwin O. Jordan, of the University Chicago, under whose advice and direction the work embodied in this paper was carried out.

(Bibliography ¹).

General

- 1) Chester, F. D., Manual of determinative bacteriology. New York 1901.
- 2) Eisenberg, J., Bakteriologische Diagnostik. Hamburg und Leipzig 1891.
- 3) Flügge, C., Die Mikroorganismen. Leipzig 1896.
- 4) Fraenkel, C., Grundriß der Bakterienkunde. Berlin 1894.
- 5) Kolle, W. und Wassermann, A., Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Jena 1902.
- 6) Lafar, F., Technical Mycology. transl. Salter. Vol. I. London 1898.
- 7) Lehmann, K. B. and Neumann, R. O., Atlas and principles of bacteriology, ed. from the second German ed. by G. H. Weaver, Phila. and London 1901.
- 8) Lustig, A., Diagnostik der Bakterien des Wassers. Jena 1893.
- 9) Macé, E., Traité pratique de bactériologie. Paris 1891.
- 10) Migula, W., System der Bakterien. Bd. II. Jena 1900.
- 11) Sternberg, G. M., Manual of bacteriology. New York 1892.
- 12) Zimmermann, O. E. R., Die Bakterien unserer Trink- und Nutzwasser. Chemnitz. I und II. 1890. III. 1900.
- 13) Dieudonné, A., Beiträge zur Beurteilung der Einwirkung des Lichtes auf Bakterien. (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IX. Wien 1894. p. 405. (cf. full bibliography there given).
- 13a) —, Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. Ib. 1894. p. 492. (with bibliography).
- 14) Beck, M. und Schultz, P., Ueber die Einwirkung sogenannten monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIII. 1896. p. 490.)
- 15) Galeotti, G., Ricerche biologiche sopra alcuni batteri cromogeni. (Lo Sperimentale. Vol. XLVI. 1892. Fasc. 3. p. 261.)
- 16) Luckhardt, A. E., Ueber Variabilität und Bedingungen der Farbstoffbildung bei Spaltpilzen. Diss. Freiburg 1901.
- 17) Oliver, C. A., An experimental study of the effects of change of color upon pigment-bacteria. (Amer. Journ. Med. Sci. Vol. CXXIII. 1902. p. 647.)
- 18) Noesske, H., Versuche über die Bedingungen der Farbstoffbildung des *Bacillus pyocyaneus*. (Beitr. z. klin. Chirurg. Bd. XVIII. Tübingen 1897. p. 103.)
- 19) Schneider, P., Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. Diss. Basel 1894. (Arb. d. bakt. Inst. Karlsruhe. 1895. Abdr. im Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. p. 633.)
- 20) Sullivan, M. X., The chemistry of bacterial pigments. (Abdr. im Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1903. p. 386.)

1) Articles not seen by the writer are bracketed [], and the place from which the reference was obtained is subjoined.

- 21) Woolley, P. G., Experiments made to determine the effect of sugar upon the pigment-formation of some chromogenic bacteria. (Johns Hopkins Bull. Vol. X. 1899. p. 130.)
- 22) Fermi, Cl., Die Leim- und Fibrin-lösenden und die diastatischen Fermente der Mikroorganismen. (Archiv f. Hygiene. Bd. X. p. 1—54.)

B. prodigiosus.

- 23) 1819. Bizio, B. [Gazzetta privilegiata di Venezia. Aug. 24.] Spica No. 44 below.
1823. — [Bibliot. Ital. o sia Giorn. di letterat., scienze ed arti. Vol. XXX. p. 275, Milano.] Spica No. 44 below.
- 24) 1844. See also id., Comptes rendus, Paris. Vol. XVIII. p. 951.
- 25) 1824. Sette [Memoria storico-naturale sull' arrossamento straordinario di alcune sostanze alimentari. Venice]. Spica, ib.
- 26) 1839. Ehrenberg, Chr. G. [Monatsber. über die zur Bekanntmachung geeigneten Verhandl. d. Kgl. preuß. Akad. der Wissenschaften, Berlin.] *Migula*.
- 27) 1850. Fresenius, G. [Beiträge zur Mykologie. Frankfurt a. M. 1850 bis 1863].
- 28) 1866. Erdmann, O. Bildung von Anilinfarben aus Proteinkörpern. (Journ. f. prakt. Chemie. Bd. III. p. 385.)
- 29) 1872. Schroeter, J., Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente. (Cohns Beitr. z. Biol. der Pflanzen. Bd. I. Heft 2. p. 109.)
- 30) 1872. Cohn, F., Untersuchungen über Bakterien. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. I. Heft 2. p. 127. See p. 151 ff., Ueber Pigmentbakterien.)
- 31) 1875. — [I. Heft 3. p. 142 ff. ?]
- 32) 1875. Helm, O., Ueber *Monas prodigiosa* und den von ihr erzeugten Farbstoff. (Archiv f. Pharmacie. Bd. III. p. 19.)
- 33) 1879. Wernich, A., Versuche über die Infektion mit *Micr. prodigiosus*. (Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. III. p. 105 (pubd. 1883).)
- 34) 1886. Liborius, P., Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. I. p. 115.)
- 35) 1887. Schottelius, M., Biologische Untersuchungen über den *Micrococcus prodigiosus*. (Printed from Festschr. für Koelliker. Leipzig. Abstr. in Centralbl. f. Bakt. Bd. II. p. 439 (1887).)
- 36) 1888. Strazza, G. Beiträge zur Lehre über die Biologie der Mikroorganismen. (Wiener med. Jahrb. Heft 1.)
- 37) 1888. Wasserzug, E., Variations de forme chez les bactéries. (Ann. de l'Inst. Past. T. II. p. 75, 153.)
- 38) 1889. Knebler, P., Ueber das Verhalten des *Micr. prodigiosus* in saurer Fleischbrühe. (Centralbl. f. Bakt. Bd. V. p. 333.)
- 39) 1892. Griffiths, A. B. Sur la matière colorante du *Monas prodigiosa*. (Comptes rendus de l'Académie de Science. T. CXV. p. 321.)
- 40) 1892. Gorini, C. [Studi sperimentali sul latte. Roma.] (Abstr. in Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 666.)
- 41) 1893. — Das *Prodigiosus*-Labferment. (Hygien. Rundschau. Bd. III. p. 381.)
- 42) Bordoni-Uffreduzzi, G., Fall von fuchsinähnlicher Bakterienfärbung des Fleisches. (Hygien. Rundschau. Bd. IV. p. 12.)
- 43) 1896. Scheurlen, E., Geschichtliche und experimentelle Studien über den *Prodigiosus*. (Archiv f. Hygiene. Bd. XXVI. p. 1.)
- 44) 1899/1900. Spica, P., Sulla materia colorante prodotta dal *Micrococcus prodigiosus*. (Rivendicazione di priorità per Bartolomeo Bizio.) (Atti del Reale Istituto Veneto di scienze, lettere, ed arti. Vol. LIX. Parte seconda, disperse 10. p. 1025—1031.)
- 45) 1899. Rosenberg, W. W., Beiträge zur Kenntnis der Bakterienfarbstoffe, insbes. der Gruppe des *Bact. prodigiosum*. Diss. Würzburg.
- 46) 1900. Kuntze, W., Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung des *B. prodigiosus*. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIV. p. 169.)
- 47) 1900. Ritter, G. Zur Physiologie des *B. prodigiosus*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. p. 206.)
- 48) 1900. Marx, H., Die Pathogenität des *B. prodigiosus*. Eine Bemerkung zur Farbstoffproduktion der Bakterien. (Archiv f. klin. Chirurgie. Bd. LXII. p. 347.)

- 49) 1902. Kraft, E., Beiträge zur Biologie des *B. prodigiosus* und zum chemischen Verhalten seines Pigments. Diss. Würzburg.
 49a) 1903. Bertarelli, E., Untersuchungen und Beobachtungen über die Biologie u. Pathogenität des *Bacillus prodigiosus*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. p. 193.)

B. ruber indicus (Koch).

- 50) Koch, R. [Berichte über die Reise zur Erforschung der Cholera. 1884.] Migula.
 51) Fraenkel, C., Grundriß der Bakterienkunde. 1891. p. 229.
 52) Flügge, op. cit. p. 302.
 53) Migula, op. cit. p. 306.

B. plymouthensis (Fischer).

- 54) Fischer, B. Bakteriologische Untersuchungen auf einer Reise nach Westindien. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. II. 1887. p. 74.)
 55) Voges, O., Ueber einige im Wasser vorkommende Pigmentbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1893. p. 314.)

B. ruber balticus } (Breunig).
B. ruber kiliensis }

- 56) Breunig, J., Bakteriologische Untersuchung des Trinkwassers der Stadt Kiel. Diss. Kiel, 1888.
 57) Laurent, E., Etude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IV. 1890. p. 465.)
 58) Petrow, N., Ueber einen neuen roten Farbstoff bildenden *Bacillus*. (*B. subkiliensis*). (Arbeit des Bakt. Inst. der Grossh. Hochschule zu Karlsruhe. 1902. p. 273.)

B. miniaceus (Zimmermann).

- 59) Zimmermann, op. cit. Reihe I. p. 46.

B. fuchsinus (Boekhout u. de Vries).

- 60) Boekhout, F. W. J., und de Vries, J. J. Ott, Ueber einen neuen chromogenen *Bacillus*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IV. 1898. p. 497.)

B. ruber (Zimmermann).

- 61) Zimmermann, O. E. R., op. cit., Reihe I. p. 24.

B. havaniensis (Sternberg).

- 62) Sternberg, G. M., Manual of bacteriology. 1892. p. 718.

B. lactis erythrogenes (Hueppe).

- 3) Grotenfeldt, G., Studien über die Zersetzungen der Milch. (Fortschr. der Med. Bd. VII. 1889. p. 41.)
 64) Tataroff [Die Dorpater Wasserbakterien. Diss. Dorpat, 1891. p. 21, p. 60?] Migula.
 65) Dyar, H., On certain bacteria from the air of New York City. (Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. VIII. 1895. p. 324.)
 66) Galeotti, G., see No. 15, ante.

B. rubefaciens (Zimmermann).

- 67) Zimmermann, op. cit., Reihe I, p. 26.

B. lactorubefaciens (Gruber).

- 68) Gruber, Th., Ueber einen die Milch rosa färbenden *Bacillus*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1902. p. 457.)

B. mycoides roseus (Scholl).

- 69) Grotenfeldt, loc. cit., p. 46.
 70) Eisenberg, op. cit., p. 84.
 71) Migula, op. cit., p. 482 (*B. mycoides*)!

B. latericeus (Adametz).

- 72) Adametz, L., [Die Bakterien der Trink- und Nutzwässer. Mitteil. der österr. Versuchsst. f. Brauerei u. Mälzerei in Wien. Heft 1. 1888. p. 50.] As cited by Chester, op. cit., p. 173.
 73) Dyar, loc. cit. p. 361.

B. rubropertinctus.

- 74) Grassberger, R., Ueber die nach intraperitonealer Injektion von Marktbutter bei Meerschweinchen entstehenden Veränderungen. (Münch. med. Woch. 1899. p. 343.)

B. mesentericus ruber (Globig).

- 75) Globig, Ueber einen Kartoffelbacillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. III. 1888. p. 323.)

B. rosaceus metalloides (Tataroff).

- 76) Tataroff [Die Dorpater Wasserbakterien. Diss. Dorpat, 1891.] Migula.
77) Hefferan, Mary, An unusual bacterial grouping. (Centralbl. f. Bakt. Bd. III. 1902. p. 689.)

List of red chromogenic Bacteria (not here discussed).

(cf. Table X.)

- | | | |
|--|---|------|
| <i>B. rubidus</i> Eisenberg. | Bakt. Diagnostik, p. 88. | 1891 |
| <i>B. ruber lactis</i> (Conn). | Rep. Conn. Agric. Sta. | 1899 |
| <i>Bact. pycocinnabareum</i> (Ferchmin. "red pus") | Centralbl. f. Bakt. Bd. XIII. p. 103. | 1894 |
| <i>Bact. rubiginosum</i> (Kern) Arb. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. Heft 4. | | 1896 |
| <i>B. rubiginosus</i> (Catiano). | Cohns Beiträge. Bd. VII. p. 538. | 1896 |
| <i>B. subcoccineus</i> " | " 539. | 1896 |
| <i>B. coccineus</i> (Pansini). | Virchow's Archiv. Bd. CXXII. p. 437. | 1890 |
| <i>B. sardinae</i> (Du Bois St. Sévrin). | Ann. Past. T. VIII. p. 152. | 1894 |
| <i>B. rubellus</i> (Okada). | Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. p. 1. | 1892 |
| <i>B. carneus</i> (Tils). | Zeitschr. f. Hyg. Bd. IX. p. 294. | 1890 |
| <i>Bact. rubrum</i> (Migula). | Migula. p. 488. | 1900 |
| <i>Bact. erythromyxa</i> (Zopf). | " p. 487. | |
| (Zopf himself (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. 1891. p. 22), calls his form a micrococcus). | | |
| <i>Bact. pseudomycoides</i> (Migula). | | |
| <i>Bact. carnosum</i> (Kern) cf. Kern above also Migula. p. 485. | | |
| <i>Bact. tuberosum</i> (Kern) " | p. 490. | |
| <i>B. rubescens</i> (Jordan). | Rep. Mass. State Bd. of Health. p. 835. | 1890 |
| <i>B. roseus</i> (Fischer) | Die Bakterien des Meeres. p. 22 | 1894 |
| <i>B. rubrofuscum</i> (Fischer) | " p. 36 | |
| <i>B. mesentericus roseus</i> (Zimmermann). | Zimmermann. II. p. 26 | 1890 |
| Soe Lustig. p. 72. Name (Kruse) see Flügge p. 303. | | |
| <i>Bact. roseum</i> (Losski). | Die Mikroorganismen des Bodens. Diss. Dorpat. See Migula, p. 484. | |
| <i>B. kermesinus</i> (Tataroff). | Die Dorpater Wasserbakterien. Diss. Dorpat. See Migula p. 858. | 1891 |
| <i>B. exiguum</i> (Wright). | Mem. Nat. Acad. Sci. Vol. VII. p. 447. | 1895 |
| <i>B. haematoides</i> (Wright). | " p. 448. | |
| <i>B. epsilon</i> (Dyar). | Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. VIII. p. 369. | 1895 |
| <i>B. zeta</i> " | " " " " " " p. 369. | |
| <i>B. delta</i> " | " " " " " " p. 368. | |
| <i>B. ferrugineus</i> (Dyar) | " " " " " " p. 361. | |
| <i>B. finitimus ruber</i> (Dyar) | " " " " " " p. 361. | |
| <i>B. salmoneus</i> (Dyar) | | |
| <i>B. rhodochrous</i> (Overbeck. Dyar) | " " " " " " | |
| (Overbeck himself called the organism a micrococcus) | | |
| See his art., Nov. Act. Leop. Carol. Acad. Vol. LV. p. 16. | | 1891 |
| <i>B. ruber berolinensis</i> (Fraenkel, p. 252) Flügge. | Die Mikroorganismen. p. 303. | 1896 |
| <i>B. subfureus</i> (Holzschewnikoff). | Fortschr. d. Med. Bd. VII. p. 201. | 1899 |
| <i>B. subfulvus</i> (Matzuschita) = "B. tuberigenus 4", Gonnermann, Landw. Jahrb. Bd. XXIII. p. 656. | | 1894 |
| <i>B. velatus</i> (Matzuschita) "B. tuberigenus 5". Gonnermann, Landw. Jahrb. Bd. XXIII. p. 657. | | |

- B. Lupini (Matzuschita) "B. tuberigenus 7", Gonnermann, Landw. Jahrb. Bd. XXIII. p. 657.
- B. pneumonicus agilis (Schou). Fortschr. d. Med. Bd. III. p. 483. 1885
See Neumann, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XIII. p. 73. 1888
- B. viduali (Matzuschita) = Bac. β Vignal, Flüggé. Bd. II. p. 283.
- B. liquefaciens communis (Sternberg). Flüggé. Bd. II. p. 315.
- B. rosaceus margariticus (Jolles and Winkler). Zschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 105. 1895
- B. nitrogenus (Matz.) B. denitrificans II. Burri und Stutzer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 362. 1895
- B. erubescens (Matzuschita) = B. oogenes hydrosulfureus Zörkendörfer, Arch. f. Hyg. Bd. XVI. p. 391. 1893
- B. subrubiginosus Maschek.
- B. rubefaciens pyogenes (Matzuschita). Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. p. 378. 1901
- B. subrubeus (Bact. subrubeum Kern). [Arb. aus d. Hochsch. zu Karlsruhe. Bd. I. p. 450.]
- B. thermophilus liquef. aërobis (Oprescu). Arch. f. Hyg. Bd. XXXIII. p. 166.
- B. "tyrogenus" "Ebenda, p. 171. 1896
- B. subthermophilus (Matzuschita) = B. thermophilus IV Rabinowitsch. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 161. 1895
- B. sacchariphilus (Laxa). Centrabl. f. Bakt. Abt. II Bd. IV. p. 362. 1898
- B. mycoides ruber (B. mycoides roseus?) Matzuschita. Archiv f. Hyg. Bd. XLI. p. 251. 1901
- B. Danteci (Le Dantec). Ann. Past. Bd. V. 1891. p. 656. Named by Kruse, Flüggé. Bd. II. p. 270.
- B. apicum (Canestrini) Flüggé, Bd. II. p. 233.
- B. mesentericus rubiginosus (Senger). Centralbl. f. Bakt. Bd. III. p. 603.

Nachdruck verboten.

Vorläufige Mitteilung über Sauerkrautgärung.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg.]

Von Dr. B. Butjagin,

Assistent am Hygienischen Institut der kaiserl. Universität Tomsk.

Die ersten Untersuchungen über die bakteriologischen Vorgänge bei der Entstehung des Sauerkrautes aus Weißkraut sind im Hygienischen Institut der Universität Würzburg 1897 von Herrn Dr. Conrad ausgeführt¹⁾. Derselbe fand in großen Mengen im Kraut, das er selbst, mit Salz und Wasser versehen, zur Gärung aufgestellt hatte, ein zur Coli-Gruppe gehöriges Stäbchen, das er isolierte, *Bacterium brassicae acidae* benannte, und von dem er feststellte, daß es Weißkraut, das durch Kochen sterilisiert war, in ein Sauerkraut verwandelte von erheblichem Säuregehalt und anfangs angenehmem, später weniger angenehmen sauerkrautartigem Geruch. Bei dieser Gärung fand auch dann eine Gasentwicklung statt, wenn die Anwesenheit eines anderen Organismus sicher ausgeschlossen war. Das Gas bestand aus Kohlensäure, Wasserstoff und geringen Mengen Methan. Auf die weiteren, ziemlich eingehenden, chemischen Untersuchungen von Conrad hier einzugehen, liegt keine Veranlassung vor. Nur muß ich noch erwähnen, daß Conrad sowohl in seinem Sauerkraut als wie in ge-

1) Conrad, Bakteriologische und chemische Studien über Sauerkrautgärung. (Archiv f. Hyg. Bd. XXIV. 1897.)

kauften Sauerkrautproben beständig mehrere Hefenarten fand. Dagegen gelang es ihm nicht, in gekauftem Sauerkraut einen Säurebildner zu finden, und er schloß daher, daß das *Bacterium brassicae acidae* im Anfang der Gärung die Säure entwickle und später absterbe.

Auf Wunsch vom Herrn Prof. Lehmann unterzog ich die Hauptangaben von Conrad einer Nachprüfung und konstatierte:

Im Gegensatz zu einem aus Faeces isolierten Colistamm vergor der alte, im Laboratorium fortgezüchtete Stamm des *Bacterium brassicae acidae* gekochtes, sterilisiertes Weißkraut, ganz wie es Conrad beschrieb, unter anfangs angenehmem, später weniger angenehmem Sauerkrautgeruch und erheblicher Gasbildung. Der Säuregehalt des Krauts stieg in meinen Versuchen nur bis auf 2,4 ccm Normalsäure auf 100 ccm Saft, während in Conrads Versuchen bis 4.2 ccm Normalsäure pro 100 g Kraut und unter Zugabe von Hefe bis 10,3 ccm gebildet worden waren.

Es liegt also die Sache so, daß der Conradsche Organismus im stande ist, in der Tat Weißkraut in ein sauerkrautartiges Produkt zu verwandeln. Nach Conrads Worten hat er nur einmal aus unsteril angesetztem Weißkraut Sauerkraut gemacht und die erhaltene Bakterienart studiert, — wenn dies wirklich so war, so wäre dies ein entschiedener Mangel. Allerdings glaubt Herr Prof. Dr. K. B. Lehmann, sich zu erinnern, daß das *Bacterium brassicae acidae* in der Tat mehrmals aus frisch angesetztem Kraute isoliert wurde.

Während ich mich zu einer Nachprüfung der Conradschen Befunde anschickte, erschien die Arbeit von Wehmer¹⁾, welche, im Gegensatz zu dem Conradschen Befund, als Erreger der Sauerkrautgärung das *Bact. brassicae* Wehmer, von dem er viele Proben untersucht hat, ein nicht Gas bildendes, stark Säure bildendes, kurzes Stäbchen beschrieb, das er ebenfalls mit Hefe, seltener mit anderen Organismen vergesellschaftet gefunden hatte. Nach der Meinung von Wehmer ist die Gasbildung bei der Sauerkrautgärung auf Alkoholhefen allein zu beziehen.

Ich war noch mit Untersuchungen verschiedener Sauerkrautproben beschäftigt, als ich durch ein Referat im „Centralblatt für Bakteriologie“ auf die große Arbeit von Henneberg über Milchsäure bildende Bakterien aufmerksam wurde. In dieser Arbeit beschreibt Henneberg auch einen *Bacillus brassicae fermentatae*. Derselbe stellt ein in Agarkultur 1,6–2,4 μ langes und 0,6 μ breites Stäbchen dar, das in Flüssigkeiten bis zu 23 μ lange Fäden bildet. Oft sind 2–4 Stäbchen miteinander verbunden. Das Optimum der Säuerungstemperatur liegt bei 34–38°, das Maximum bei 45°. Die Art säuert Arabinose, Laevulose, Dextrose und Maltose sehr stark unter Gasbildung²⁾. Wenigstens scheint

1) Wehmer, Die Sauerkrautgärung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. X. No. 20/21.)

2) Henneberg, Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. (Sonderabdruck aus Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1903. No. 22–31.)

der Ausdruck „Gärung“ hier in diesem Sinne gebraucht zu sein, daß der Verf. von Gärungen im Agarstich spricht.

Ueber Gramfärbung ist weder in der Arbeit von Wehmer, noch in der Arbeit von Henneberg etwas gesagt. Ueberhaupt ist die Beschreibung des Letzteren mehr nach den Regeln der Gärungsphysiologen, d. h. mit geringer Beachtung der Morphologie und mit starker Betonung der biologischen Eigenschaften ausgeführt. Sicher ist der Organismus von Wehmer und der von Henneberg weder unter sich, noch mit dem Conradschen identisch, welcher letzteren Punkt beide Autoren betonen.

Meine eigenen Untersuchungen führten zu einem sehr bestimmten und einfachen Resultat, welches, wie ich vorgreifend bemerken möchte, im wesentlichen offenbar mit dem von Wehmer stimmt. Ich verfuhr, gerade wie Conrad es getan hatte, so, daß ich ausgesucht schönes Weißkraut kunstgerecht zerschnitt, mit etwas Salz und Wasser aufeinander schichtete und nun im Anfang täglich, später alle 2 oder 3 Tage Platten auf Weißkrautzuckeragar goß und Färbepreparate anfertigte.

Die Resultate der Versuche stelle ich in folgenden 3 Tabellen zusammen, von denen die erste ausführlicher, die beiden folgenden kürzer gehalten sind (siehe p. 543, 544, 545, 546).

Ein Blick auf diese Tabellen zeigt mit voller Sicherheit: Auf den ersten Platten waren sporentragende Bacillen in kleiner Zahl, ein gelbes, nach Gram nicht färbbares Bakterium reichlich kleine, weiße Kolonien, welche die Gelatine nicht verflüssigten, noch in bescheidener Zahl vorhanden. Die letzteren nahmen von Tag zu Tag an Zahl zu, vom 5. Tage ab stellten die Platten mehr oder weniger vollständige Reinkulturen des weißen, kleinen, Gelatine nicht verflüssigenden, nach Gram exquisit färbbaren, kurzen Stäbchens dar, das in den meisten Punkten mit *Bacterium Güntheri* Lehmann und Neumann gleich *Bacterium lactis acidi* Leichmann identisch ist. Durch die Arbeit von Kruse¹⁾ wird die Auffassung zu begründen gesucht, daß dieser Organismus am besten als *Streptococcus* aus der Verwandtschaft des *Streptococcus lanceolatus* aufzufassen sei. Ich kann bestätigen, daß mein Organismus in der Tat vielfach aus kurzen, lanzettförmigen, zu kleinen Ketten aneinander gelagerten Individuen bestand. Großen Wert lege ich für die Diagnose auf die tadellose Gramfärbung, auf den Mangel an Eigenbewegung, auf das Fehlen jeder Gasbildung. Wehmer findet ebenfalls, daß sein Organismus mit *Bacterium Güntheri* mindestens sehr nahe verwandt ist. Auch ich möchte die Frage offen lassen, ob wir es hier mit einer Varietät dieses Organismus, oder mit einer neuen Spezies zu tun haben. Ich habe meinen Organismus genau auf den verschiedenen Nährböden untersucht und teile in tabellarischer Uebersicht die Merkmale mit. Eine gröbere Differenz von *Bacterium Güntheri* finde ich nur in

1) Kruse, Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum *Streptococcus lanceolatus* (*Pneumonicoccus*, *Enterococcus* u. s. w.) (Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXXIV. No. 8.)

Tabelle I. Versuch 1.

Zeit der Gärung in Tagen	Mikroskopisches Präparat	Platten, gegossen mit der Abschwemmung von 2 Krautfäden von je ca. 8 cm Länge. Zählung: zweite oder dritte Ver- dünnung.
1.	Verschiedene Stäbchen und etwas Mikrokokken α kurze dicke Stäbchen, nicht färb- bar nach Gram β sehr kurze Stäbchen, oft zu zweien, nach Gram färbbar	250 Kolonien, davon 16 sporentragende Bacillen 200 gelbe Kolonien, Gelatine nicht- verflüssigend = α 20 weiße kleine Kolonien, Ge- latine nichtverflüssigend = β 4 coliähnliche 5 Schimmelpilze Gelbe, orangegelbe und andere ver- einzelte Kolonien
2.	Sehr viel von α und β , auch viele lange Stäbchen nach Gram nicht färbbar	230 Kolonien, davon 3 Sporentragende Bacillen 150 gelbe Kolonien α 70 weiße Kolonien β 3 coliähnliche 1 Schimmelpilze, Hefe und andere
3.	Ähnlich wie nach 2 Tagen	102 Kolonien, davon 60 gelbe Kolonien α 35 weiße Kolonien β 4 verflüssigende gelbe Kolonien
4.	Sehr viele kleine Stäbchen, nicht zu zweien, bisweilen in Ketten, nach Gram färbbar = β Kurze dicke Stäbchen, nicht ge- färbt nach Gram = α Kleine dünne Stäbchen, nicht färb- bar nach Gram Wenig Oidien	65 Kolonien, davon 50 weiße β 10 gelbe α 2 coliähnliche
6.	Sehr viel β Wenig α Lange Stäbchen, nach Gram nicht färbbar	63 Kolonien, davon nur zwei gelbe α übrige weiße β
7.	Fast nur β -Stäbchen; sie bilden Ketten	Reinkultur von β = 72 Kolonien
8.	Fast nur β -Stäbchen, bisweilen ein- zelne lange, nach Gram auch färbbare Stäbchen	Reinkultur β : 40 Kolonien
10.	Wie nach 8 Tagen	Reinkultur β : 56 Kolonien
13.	Vorherrschend β ; auch lange Stäb- chen zu Fäden, nach Gram färbbar; wenig dicke Stäbchen, nicht gefärbt nach Gram	Kultur von β , einzelne Kolonien von Schimmelpilzen, Coli (je 1 Kolonie)
15.	Viel β ; sie sehen wie Streptokokken aus und bilden Ketten von 5—7 Gliedern Einzelne andere nicht nach Gram färbbare Stäbchen	46 Kolonien β 2 Schimmelpilzkolonien

Zeit der Gärung in Tagen	Mikroskopisches Präparat	Platten, gegossen mit der Abschwemmung von 2 Krautfäden von je ca. 8 cm Länge. Zählung: zweite oder dritte Ver- dünnung
18.	Wie nach 15 Tagen	130 Kolonien, fast nur β 6 Hefe
21.	Viel β , etwas Hefe und andere Stäbchen, nach Gram nicht färbbar	44 Kolonien, davon 3 Hefe 4 weiße, verflüssigende Gelatine übrige β
23.	Sehr viele β , daneben Hefe	132 Kolonien, davon 39 Hefe 5 verflüssigende Gelatine Stäbchen übrige β
25.	Sehr viel β und Hefe	176 Kolonien, davon 50 Hefe übrige β
28.	Viel β ; kurze dicke Stäbchen zu zweien, Hefe	196 Kolonien, davon 42 Hefe 2 gelbe übrige weiße β
30.	Sehr viel Hefe, weniger β	128 Kolonien, davon 65 Hefe 3 Schimmelpilze übrige β
32.	Sehr viel Hefe, viel weniger β	45 Kolonien, davon 28 Hefe 13 β 4 verflüssigende Gelatine
35.	Wie nach 32 Tagen	57 Kolonien, davon 43 Hefe 14 β
42.	Sehr wenig β , viel große Stäbchen, zu Fäden, nach Gram färbbar; sehr viel Hefe	93 Kolonien, davon 5 β das übrige Hefe
45.	Sehr viel Hefe, einzelne β -Stäbchen	240 Kolonien, überhaupt Hefe

Tabelle II. Versuch 2.

1.	Verschiedene Stäbchen und Mikro- kokken, darunter β sehr kurze Stäbchen, färbbar nach Gram α dicke Stäbchen, nicht färbbar nach Gram	130 Kolonien, davon 10 sporentragende Bacillen 11 weiße kleine Kolonien, nicht- verflüssigende Gelatine β 26 coliähnliche 75 gelbe Kolonien, nichtverflüss. Gelatine α 14 Schimmelpilze Gelbe, rote und andere Kolonien
2.	Viele von α und β verschiedene Keime, auch Stäbchen und Mikro- kokken	190 Kolonien, davon 45 weiße Kolonien β 110 gelbe Kolonien β 6 sporentragende Bacillen 4 Schimmelpilze 10 coliähnliche

Zeit der Gärung in Tagen	Mikroskopisches Präparat	Platten, gegossen mit der Abschwemmung von 2 Krautfäden von ca. 8 cm Länge. Zählung: zweite oder dritte Verdünnung
3.	Verschiedene Stäbchen und Mikrokokken, aber viel mehr von α und β	100 Kolonien, davon 60 weiße β 22 gelbe α 5 sporentragende Bacillen 4 coliähnliche 3 Hefe verschiedene andere Kolonien
5.	Sehr viel β , wenig α und andere Stäbchen und Mikrokokken	180 Kolonien, davon überhaupt weiße Kolonien β sehr wenig von α , einzelne Hefen und sporentragende Bacillen
7.	Fast nur β , sie bilden Ketten nach Gram sehr gut färbbar	93 Kolonien, davon nur 3 Kolonien der sporentragenden Bacillen die übrigen β
9.	Fast nur β -Stäbchen, sie bilden Ketten	Reinkultur β : 64 Kolonien
11.	Fast nur β -Stäbchen	Reinkultur β : 54 Kolonien
13.	Ueberhaupt β , auch lange Stäbchen nach Gram nicht färbbar, einzelne Hefe	140 Kolonien, fast nur β 3 Hefe 2 coliähnliche
15.	Wie nach 13 Tagen	200 Kolonien, fast nur β 6 Hefe 2 Schimmelpilze
18.	Sehr viel β , etwas Hefe und andere Stäbchen, nicht färbbar nach Gram	140 Kolonien, davon fast nur β 6 Hefe
20.	Viel β , Hefe	95 Kolonien, davon vorwiegend β 22 Hefe
25.	Ueberhaupt β und Hefe	116 Kolonien, davon 46 Hefe, übrige β

Tabelle III. Versuch 3.

1.	Verschiedene Mikroorganismen: Hefe, Stäbchen, nach Gram färbbar und nicht färbbar, daneben Mikrokokken	Nur 14 Kolonien, davon 2 Hefe 2 Schimmelpilze 2 coliähnliche übrige weiße und gelbe Kolonien
3.	Stäbchen nach Gram färbbar, kleine, dicke Stäbchen, lange, dicke, nicht färbbar nach Gram, einzelne Mikrokokken	35 Kolonien, davon 10 weiße Kolonien β 10 gelbe Gelat. verflüssigende 4 Schimmelpilze 4 coliähnliche verschiedene andere Kolonien

Zeit der Gärung in Tagen	Mikroskopisches Präparat	Platten, gegossen mit der Abschwemmung von 2 Krautfäden von je ca. 8 cm Länge. Zählung: zweite oder dritte Verdünnung
5.	Sehr viel dicke, kurze Stäbchen nach Gram färbbar, einige Hefen; dicke, lange Stäbchen, nach Gram gefärbt	180 Kolonien, ganz vorwiegend β 2 Schimmelpilze 3 Hefen
6.	Sehr viel β	104 Kolonien, ganz vorwiegend β einzelne Kolonien von Hefe
8.	Wie nach 6 Tagen	112 Kolonien, wie nach 6 Tagen
10.	Fast nur β -Stäbchen	130 Kolonien Reinkultur β
11.	Sehr viel β , einige Hefen und Stäbchen, nicht gefärbt nach Gram	190 Kolonien, ganz vorwiegend β 3 andere Kolonien
13.	Fast nur Stäbchen β	250 Kolonien, davon nur 6 andere Kolonien die übrigen β
15.	Wie nach 13 Tagen	64 Kolonien Reinkultur von β
18.	Vorwiegend β , viel Hefe	120 Kolonien, davon 96 β viel Hefe

einem Punkt. Mein Organismus koagulierte Milch erst nach 21—23 Tagen. Eine Probe war sogar nach 4 Wochen noch nicht koaguliert.

Tabelle IV.
Die Eigenschaften des Krautbacteriums.

Mikroskopisches Aussehen	Sehr kurze Stäbchen mit abgerundeten oder zugespitzten Enden, oft zu zweien, bisweilen Ketten von je 5—8 Gliedern. Große Ähnlichkeit mit <i>Streptococcus lanceolatus</i>
Eigenbewegung	Fehlt
Färbbarkeit	Sehr gut nach Gram
Sauerstoffbedürfnis	Wächst aërob und anaërob
Wachstumsintensität	Wächst besser bei 22° oder in gewöhnlicher Temperatur, bei 37° sehr langsam. Wächst üppig auf Nährböden mit Krautbrühe oder mit Zucker
Krautgelatineplatte	A. Natürliche Größe. Tiefliegende: punktförmig oder oval, gelblich. Aufliegende: kleine weiße Kolonien, die sich über die Oberfläche erheben, nicht mehr als 1 mm breit B. 50fache Vergrößerung. Runde Kolonien mit glattem Rand, gelblichbraun, an der Peripherie durchscheinend

Krautgelatinestich	Stich fadenförmig weißlich. Auflage weiß rundlich, sehr klein. Gelatine nie verflüssigt
Krautagarplatte	A. Natürliche Größe: In der Tiefe rundliche, gelbe Kolonien, auf der Oberfläche runde, weiße, mit glatten Rändern B. Bei schwacher Vergrößerung: Runde oder ovale Kolonien, gelblichgrau, Randperipherie granuliert
Gewöhnlicher Agar und Zuckeragar	Dünne Ausbreitung längs des Striches, am Rande mit Knötchen. Kondenswasser mit weißem Bodensatz Auf Agar ohne Zucker wächst er sehr wenig. Auf Agar mit Milchzucker wächst er etwas besser; kleine, weiße, punktförmige Kolonien (nach 4 Tagen). Auf Traubenzuckeragar wächst er noch besser: Kolonien 0,5 mm breit, weißlich, mit glatten Rändern Auf Rohrzuckeragar: Wachstum besonders üppig, tiefliegende Kolonien weißlich, 0,5 mm breit; aufliegende flach glänzend, bis 3—5 mm breit, weißlich (nach 4 Tagen) Auf Kreideagar: Die Kolonien mit einem hellen Hof.
Bouillonkultur	Getrübt schwach, mit weißem Bodensatz
Milchkultur	Koaguliert fest, aber erst nach 21—23 Tagen. Eine Probe war sogar nach 4 Wochen noch nicht koaguliert
Kartoffelkultur	Anfangs unscheinbares, aber ausgebreitetes, weißes Wachstum; etwas später wird der Belag deutlicher, weißlicher und es tritt ein ziemlich stark saurer Geruch auf
Chemische Leistungen	Kein Gas, kein Indol, kein H_2S

Die Prüfung auf das Verhalten gegen die verschiedenen, in den Laboratorien seltener angewendeten Zuckerarten habe ich noch nicht vorgenommen. Dagegen habe ich die Säurebildung auf Milchzucker, Traubenzucker und Rohrzucker untersucht. Die Zahlen sind in folgender Tabelle niedergelegt:

Tabelle V.

Säurebildung in 2 Proz. Milch-, Trauben- und Rohrzuckerbouillon bei 22°.
Auf 10 ccm Bouillon — die Menge $\frac{1}{10}$ n NaHO.

Zeit in Tagen	Milchzuckerbouillon	Traubenzuckerbouillon	Rohrzuckerbouillon
1.	0,1	0,5	0,2
2.	0,5	1,6	1,1
3.	0,6	3,0	3,6
4.	0,6	3,2	4,6
5.	0,9	3,2	4,8
6.	1,0	3,2	4,8
7.	1,3	3,4	4,6
9.	1,3	3,4	4,6
11.	2,1	3,7	4,8
13.	2,7	4,2	5,0
15.	2,7	4,4	5,0
27.	2,7	5,0	5,2

35*

Aus der Tabelle folgt das interessante Resultat, daß der Organismus Milchzucker nur sehr langsam und recht unvollständig säuert, daß er dagegen am schnellsten Rohrzucker, etwas langsamer Traubenzucker in Säure verwandelt. Es entspricht dies offenbar seiner Anpassung an den Rohrzuckergehalt des Weißkrautes.

Die Säuerung des Krauts durch mein Krautbakterium aus Kraut war eine sehr starke. Ich konnte schon am 6. Tag den Wert von 6 ccm Normalsäure in 100 ccm Krautbrühe finden. Mehr wie 7 ccm habe ich auch nach längerer Gärdauer nicht erhalten. Diese Zahlen stimmen ganz gut mit denen überein, welche Conrad bei der Titrierung von käuflichem Sauerkraut und seinem mit *Bacterium brassicae acidae* angesetzten Sauerkraute erhalten hat. Ich konnte weder mit Conrads Organismus, wie schon oben bemerkt, so hohe Säurezahlen erhalten, noch war es mir möglich, wofür ich keine Erklärung weiß, mit gekauftem Sauerkraut regelmäßig höhere Säuremengen zu erhalten. Ich fand für 100 ccm Brühe von gekauftem Kraute 2, 8, 4, 3, 6 ccm Normalsäure.

Tabelle VI.
Säurebildung in gekochtem Weißkraut.

Nährboden: 100 g Weißkraut, 100 ccm Wasser und 0,5 g NaCl			
Versuch I. Säuregrad am Tage der Impfung: 100 ccm Saft = 0,9 ccm $\frac{1}{1}$ n NaHO		Versuch II. Säuregrad am Tage der Impfung: 100 ccm Saft = 1,0 ccm $\frac{1}{1}$ NaHO	
Zeit in Tagen	Säuregrad	Zeit in Tagen	Säuregrad
Nach		Nach	
2	4,6	1	2,7
4	5,9	3	5,2
6	6,3	5	6,0
9	6,6	7	6,3
12	6,6	10	6,4
16	6,5	12	6,9
21	6,6	15	6,8
23	6,4	18	6,9
26	6,4	21	6,9
30	6,3	25	6,7
33	6,3	29	6,6
35	6,4		

Während ich in meinen Untersuchungen leicht dreimal in Zwischenräumen von je 3 Wochen den dem *Bacterium Güntheri* nahestehenden Organismus aus selbst angesetztem Sauerkraut isolierte, gelang es mir, wie seinerzeit Conrad nicht, aus 5 käuflichen Sauerkrautproben einen kräftigen Säurebildner zu isolieren; ich erhielt nur Hefe und Oidien.

(Siehe Tabelle VII p. 549.)

Um den Vergleich mit dem *Bacterium Güntheri* aus Milch vollständiger durchführen zu können, habe ich auch einige Untersuchungen an saurer Milch vorgenommen. Eine Marktmilchprobe

Tabelle VII.
Die Mikroorganismen in verkäuflichem Kraut.

No.	Mikroskopisches Präparat	Platten
I.	Sehr viel Hefen, große dicke Stäbchen, nach Gram färbbar, kleine plumbe Stäbchen, nicht gefärbt nach Gram	145 Kolonien, davon 130 Hefen 8 weiße Kolonien, Gelatine verflüssigend
II.	Sehr viel Hefen, verschiedene einzelne Stäbchen, einzelne Mikrokokken	193 Kolonien, davon 186 Hefen 7 Oidium keine anderen Kolonien
III.	Sehr viel Hefen, wenige dicke Stäbchen, nicht färbbar nach Gram, einzelne Mikrokokken	160 Kolonien, nur Oidium und Hefe keine anderen Kolonien gefunden
IV.	Viel Hefen, einzelne Stäbchen kurz, dick, nicht nach Gram färbbar. Sehr wenig große Stäbchen	93 Kolonien, meist Hefe, Oidium, 2 Schimmelpilze 2 Subtilis keine anderen Kolonien
V.	Viel Hefe, etwas dicke, lange Stäbchen, einzelne Mikrokokken	44 Kolonien, meist Hefe, Oidium 2 Mikrokokkenkolonien 2 Subtilis

wurde in zwei Teile geteilt und einmal im Zimmer, das andere Mal im 37° Schrank der spontanen Säuerung überlassen. Aus beiden Milchsorten wurden auf Milchzuckergelatine Platten gegossen und dieselben nach 24 Stunden bei 22° untersucht. Auf der Milchprobe, die bei niedriger Temperatur gesäuert war, entwickelten sich fast ausschließlich die sehr kleinen Kolonien des *Bacterium Güntheri*, die in ihren Eigenschaften mit der Diagnose von Günther und Thierfelder durchaus übereinstimmen. Die Milchprobe, welche in der Wärme gesäuert war, ließ auf der Platte neben einer größeren Zahl Kolonien von *Bacterium Güntheri* auch eine stattliche Zahl viel größerer, saftiger Kolonien eines Organismus erkennen, welcher durch seine Unfärbbarkeit nach Gram, starke Gasbildung aus Traubenzuckergelatine, fehlende Eigenbewegung als *Bacterium acidi lactici* erkannt wurde. Ich habe auch die Säurebildung dieser beiden Arten auf den gleichen Nährböden, wie ich sie oben für das *Bacterium Güntheri* aus Sauerkraut anwandte, untersucht. Die Säurezahlen sind ähnlich den dort mitgeteilten, aber das *Bacterium Güntheri* aus Milch säuert Milchzucker ebenso gut wie die anderen Zuckerarten. Dagegen überwog bei *Bacterium acidi lactici* ebenfalls die Rohrzuckersäuerung über die Säuerung von Milchzucker und Traubenzucker.

(Siehe Tabelle p. 550.)

Fasse ich meine Resultate zusammen, so ergibt sich:

1) Der wichtigste Erreger der Sauerkrautgärung in Würzburg ist das *Bacterium Güntheri* — resp. eine demselben sehr

Tabelle VIII.

Säurebildung von: 1) Bact. Güntheri aus Milch.
2) Bact. acidi lactici aus Milch.

Die Menge $\frac{1}{10}$ n. NaHO auf 10 ccm Bouillon.

Zeit in Tagen	Bouillon mit 2 Proz. Milchzucker		Bouillon mit 2 Proz. Traubenzucker		Bouillon mit 2 Proz. Rohrzucker	
	Bact. Güntheri	Bact. acidi lactici	Bact. Güntheri	Bact. acidi lactici	Bact. Güntheri	Bact. acidi lactici
1	2,8	2,2	2,8	3,1	2,9	3,9
2	3,4	3,4	3,4	3,8	3,1	4,2
3	3,3	3,7	3,3	3,4	3,1	3,8
4	3,3	3,6	3,6	3,7	3,2	4,3
5	3,4	3,7	—	—	3,4	—
6	3,4	—	3,5	3,6	—	4,4
7	3,4	3,9	3,6	3,6	—	—
9	—	4,0	3,5	3,7	3,6	4,3

nahestehende Art Bact. brassicae Wehmer — wie dies Wehmer für norddeutsches Sauerkraut fand.

2) Auch andere Organismen scheinen zur Erregung der Sauerkrautgärung mehr oder weniger vollkommen befähigt zu sein. Die Angaben von Conrad über Bacterium brassicae acidae sind richtig, und aus der Hennebergschen Arbeit geht hervor, daß auch von anderer Seite gasbildende, von dem Bacterium brassicae acidae stärker verschiedene Arten gefunden sind. Ob man das Hennebergsche Bacterium brassicae fermentatae zur Coli-Gruppe rechnen darf, ist aus seiner Beschreibung nicht genügend zu ersehen. Welche Rolle die Hefen bei der Sauerkrautgärung spielen, habe ich bisher nicht untersucht. Es ist zu prüfen, ob sie nicht vielleicht nur harmlose Ansiedler auf dem gesäuerten Kraut darstellen, ohne eine wesentliche Bedeutung zu besitzen. Doch sind darüber, sowie zur Prüfung der anderen Möglichkeiten natürlich eingehende Studien notwendig. Ich hoffe, in meine Heimat zurückgekehrt, die Frage nach dem Erreger der Sauerkrautgärung in Sibirien einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen, wobei ich es mir angelegen sein lassen werde, auch die Chemie des Sauerkrautes näher zu studieren, eine Aufgabe, zu der ich bei meinem kurzen Aufenthalt in Deutschland noch nicht die nötige Zeit fand.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, dem hochverehrten Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und die schätzbare Unterstützung bei ihrer Anfertigung meinen innigen Dank auszudrücken.

Nachdruck verboten.

Ueber einige in Kamerun auf Theobroma cacao beobachtete Pilze.

Von Dr. Otto Appel,

Reg.-Rat und Mitglied der biolog. Abt. am Kaiserl. Gesundheitsamte, Berlin
und

Dr. H. F. Strunk,

Leiter des botanischen Gartens zu Viktoria, Kamerun.

Mit 13 Figuren.

Gelegentlich der Untersuchung einer Sendung von Teilen kranker Kakaopflanzen, die Herr Dr. Strunk im botanischen Garten zu Viktoria in Kamerun gesammelt hatte, fanden sich verschiedene neue Pilze, die mit keiner der bekannten Arten identifiziert werden konnten. Wenn auch die biologische Bedeutung der Pilze und besonders ihre Rolle als Krankheitserreger nicht endgültig festzustellen war, da nur Alkohol- bzw. Formalinmaterial vorlag, so dürfte es doch angezeigt sein, die Pilze zu beschreiben, damit die Aufmerksamkeit der beteiligten Kreise auf sie gelenkt und eine weitere Beobachtung derselben erleichtert wird.

Die Bearbeitung des Materiales wurde während einesurlaubes, den Herr Dr. Strunk zum Teil benutzte, um in dem mir unterstellten botanischen Laboratorium der biologischen Abteilung am kaiserl. Gesundheitsamte phyto-pathologisch zu arbeiten, gemeinsam von uns beiden durchgeführt.

Berlin, den 22. November 1903.

Appel.

Diplodina corticola n. sp.

Auf einem Aststücke eines auf unaufgeklärte Weise abgestorbenen Kakaobaumes fanden sich zerstreut kleine unscheinbare, schwarze Pusteln, die aus einer oder mehreren Pykniden bestanden (Fig. 1 u. 2). Als Parasit scheint der Pilz wegen seines sporadischen Auftretens keine Bedeutung zu haben, da er jedoch mit keiner bekannten Art übereinstimmt, beschreiben wir ihn als *Diplodina corticola*. Auch mit *Diplodia cacaoicola* P. Henn. und *Botryodiplodia* ist sie nicht identisch.

Diagnose: Fruchtgehäuse einzeln oder zu mehreren zusammenstehend, von 0,4—0,6 μ Durchmesser, wenig in die Rinde eingesenkt und von der Oberhaut bedeckt, mehrfach gekammert. Mündungspapille rund, 20—40 μ im Durchmesser. Konidien

hyalin, zweizellig, länglich, mit gleichmäßig abgerundeten Enden und einer schwachen Einschnürung in der Mitte, $6-9 \times 3-4,5 \mu$.

Auf trockenen Aesten eines Kakaobaumes im botanischen Garten zu Viktoria.

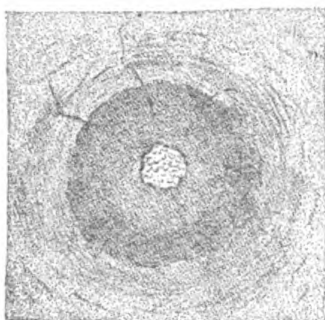


Fig. 1.

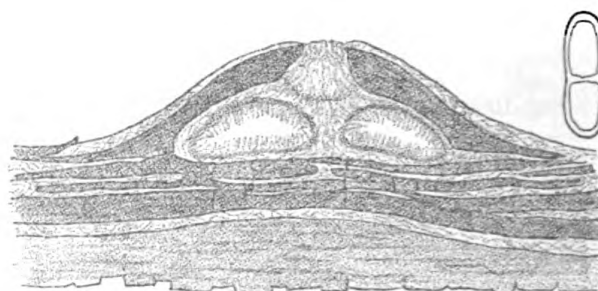


Fig. 2.

Rhabdospora theobromae n. sp.

Auf der Schale von Kakaofrüchten von 6—8 cm Länge zeigen sich nicht scharf begrenzte Flecken von dunkelbrauner Farbe und morschem Aussehen, die häufig mit einem hellbraunen Ueberzug bedeckt sind. Die Stiele dieser Früchte sind reichlich von dickem, septiertem, intercellular wachsendem Mycel durchzogen. Schnitte durch die Flecke der Fruchtschale ergeben das Vorhandensein von Pykniden. Dieselben sind wenig eingesenkt, stehen in Mehrzahl

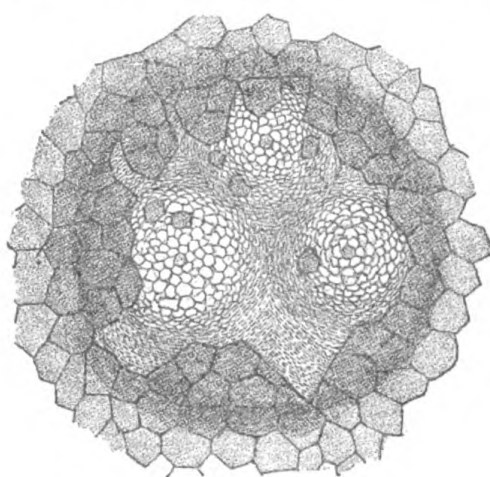


Fig. 3.

zusammen und durchbrechen einzeln oder zu mehreren die Epidermis. In reifem Zustande erscheinen sie fast oberflächlich aufgelagert, doch zeigt ein Flächenschnitt wie die Pykniden durch die Epidermis hindurch brechen (Fig. 3) und man sieht das mehr oder weniger dunkelgefärbte Gewebe der Pyknide umgeben von einem braunen unregelmäßigen Ringe, der aus der Epidermis gebildet wird. Häufig haften auch den frei herausragenden Teilen der Pykniden noch Epidermisreste an. Eine Mündung war an den

vorliegenden Pykniden nicht deutlich zu erkennen, doch deutet eine besonders hervortretende Zelle, um die die umliegenden Zellen zentral angeordnet sind, darauf hin, daß sich das Gehäuse mit einem regelmäßigen Loche öffnet.

Die Sporen sind cylindrisch, $48-60 \mu$ lang und $6-9 \mu$ breit,

an beiden Enden allmählich verjüngt, nicht spitz, etwas gebogen (Fig. 4), in der Jugend sind sie einzellig mit homogenem Inhalt, später treten 1–5 Querwände auf. In den mikroskopischen Präparaten finden sich häufig Sporen, die ihrer Größe nach ausgewachsen sind, die aber keine Querwände haben, sondern deren Inhalt in unregelmäßige Teile zerfallen ist. Ob hier Teilungsvorgänge des Inhaltes vorliegen, oder ob diese Erscheinung auf das Konservierungsmaterial zurückzuführen ist, muß dahingestellt bleiben.

Der ganzen Erscheinung nach siedelt sich der Pilz auf jungen, im Wachstum noch nicht weit vorgeschrittenen Kakaofrüchten an. Ein Zusammenhang zwischen dem Mycel des Fruchstieles und den Pykniden ließ sich nicht nachweisen, bemerkenswert ist es aber, daß die Flecke, in denen sich die Pykniden des Pilzes fanden, nahe der Ansatzstelle des Fruchstieles waren. Erschwert wird

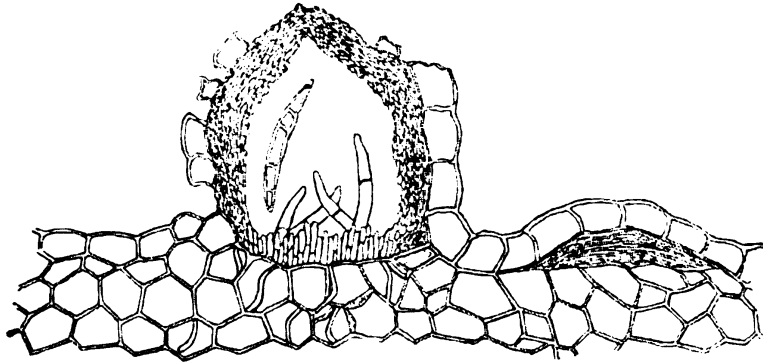


Fig. 4.

die Beurteilung der Rolle des Pilzes als Parasit dadurch, daß neben ihm auch noch *Colletotrichum*, *Piricularia* und *Corymbomyces* auf derselben Frucht sich fanden.

Seiner systematischen Stellung nach gehört der Pilz zu der Gattung *Rhabdospora*, wenn er sich auch von den meisten Arten dieser Gattung durch seine flache Einsenkung in das Substrat unterscheidet; mit einer der bisher beschriebenen Arten konnte er nicht identifiziert werden, weshalb wir ihn beschreiben als:

Rhabdospora theobromae n. sp.

Diagnose: Auf dunkelbraunen Flecken; die Pykniden schwach eingesenkt, herdenweise, hervorbrechend, breit-eiförmig, 1,2–1,6 mm im Durchmesser. mehr oder weniger graubraun gefärbt, teilweise von der Epidermis bedeckt; Sporen cylindrisch, an beiden Enden verschmälert, aber nicht spitz, wenig gebogen, ein- bis mehrfach septiert, hyalin, $48-60 \times 6-9 \mu$.

Auf den Schalen abgestorbener Kakaofrüchte im botanischen Garten zu Viktoria.

Discella cacaoicola n. sp.

Eine häufige und sehr charakteristische Erscheinung ist das Auftreten dichtgedrängt stehender, kleiner, bald geschlossener, bald offener, hellbraun gefärbter Pusteln auf den Schalen der Kakao-früchte. Die Früchte, die diese Erscheinung zeigen, sind teils in jüngerem Stadium abgestorben, teils sind sie fast ganz ausgewachsen; in allen Fällen sind aber die Samenanlagen unentwickelt. Bei einem Teile des vorliegenden Materiales ist die ganze Fruchtschale ungleichmäßig dicht mit den Pusteln überzogen, wie es die Fig. 5a an einem Ausschnitte der Fruchtschale zeigt. In

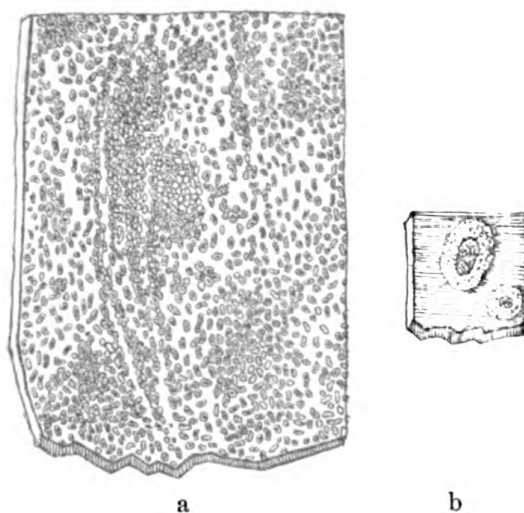


Fig. 5.

anderen Fällen sind die Früchte zwar ebenfalls mit den Pusteln reich besetzt, das Bild wird aber dadurch getrübt, daß *Fusarium theobromae*, offenbar nachträglich eingewandert, einen dichten Filz darüber zieht.

Auf einem Schnitt durch eine solche Pustel zeigt sich eine Pyknide, die anfänglich völlig geschlossen, mehr oder weniger tief in das Grundgewebe der Schale eingesenkt, schüsselförmig ausgebreitet ist. Der äußeren Gestalt nach erscheint sie

etwas länger als breit, in ihrer Größe sehr verschieden, höchstens $1,5 \times 1$ mm.

Im Reifezustande brechen die Pykniden mit weiter Oeffnung auf und zerreißen das darüberliegende Gewebe unregelmäßig. Nicht selten bilden sich in dem die Pyknide überdeckenden Gewebe Fruchtkörper von viel kleinerem Umfange, die ebenfalls aufbrechen und die dann dem Rande der großen Pykniden ein punktiertes oder zerrissenes Aussehen geben (Fig. 5b).

Die Konidien stehen einzeln am Ende dichtgedrängter, unverzweigter Träger, die das ganze Innere des Fruchthäuses auskleiden (Fig. 6). Sie sind spindelförmig, zweizellig, hyalin, $6-9 \times 3 \mu$. Die Fig. 6a stellt einen Schnitt dar, der nicht direkt durch die Mitte geführt ist, um die Ausbreitung des Fruchthäuses im Zellgewebe der Nährpflanze zeigen zu können.

Die Tatsache, daß frühzeitig abgestorbene Früchte auf ihrer ganzen Oberfläche dicht mit den Pykniden der *Discella* bedeckt waren, macht es wahrscheinlich, daß der Pilz eine größere pathologische Bedeutung hat.

Der Pilz ist bisher noch nicht beschrieben.

Diagnose: Pykniden hervorbrechend, unregelmäßig schüsselförmig, graubraun, zahlreich zusammenstehend, bis $1,0 \times 1,5$ mm,

unregelmäßig aufreißend; Konidienträger hyalin, ungeteilt; Konidien oblong-spindelförmig, zweizellig, hyalin, $6-9 \times 3 \mu$, einzeln an den Enden der Träger.

Auf Kakaofrüchten in Viktoria.

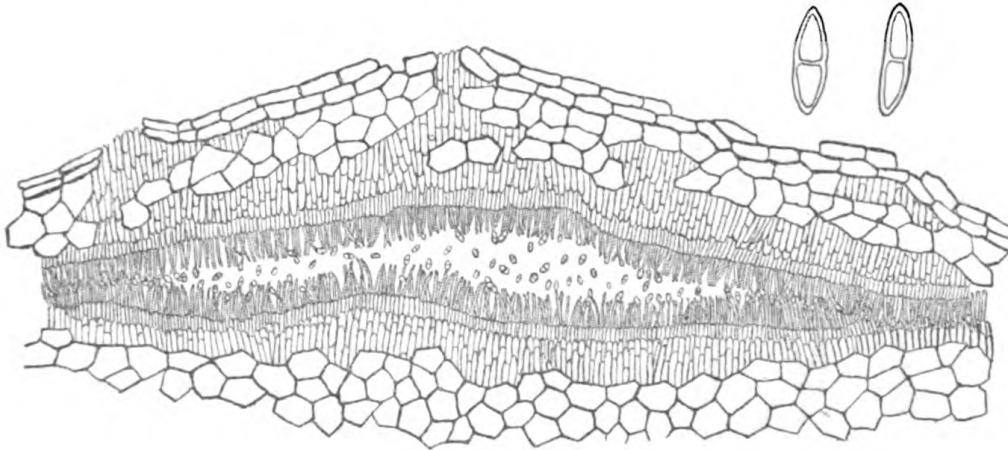


Fig. 6.

Colletotrichum theobromae n. sp.

Auf der Schale fast aller untersuchten Kakaofrüchte fanden sich kleine, ohne Vergrößerung nicht deutlich erkennbare schwarze, dicht zusammenstehende Pünktchen, von einem Durchmesser von $1,0-1,2 \text{ mm}$; dieselben rühren von einem Pilze her.

Als Anfangsstadium des Befalles erkennt man eine dunkle bis grau-schwarze Verfärbung der Zellwände, aus denen später die Sporenlager hervorkommen; am Rande der so gezeichneten Flecke entstehen die für die Gattung *Colletotrichum* charakteristischen Borsten (Fig. 7). Diese letzteren sind erst grau-schwarz, später dunkelbraun, mit 1–2 Querwänden, mit einer dickeren Fußzelle, $60-75 \mu$ lang, 3μ breit und lang zugespitzt. Das Mycel ist nur wenige Zelllagen weit zu verfolgen; es ist dick und unregelmäßig, häufig mit sackartigen Ausstülpungen versehen. Die hyalinen Konidienträger brechen unter der Epidermis hervor; sie stehen dicht gedrängt, sind etwa 10μ lang und unten verdickt (Fig. 8a). Die Konidien stehen einzeln am Ende dieser Träger; sie sind hyalin, einzellig, länglich, an den Enden ungleich abgerundet, $9-12 \mu$ lang, $3-5 \mu$ breit, in den vorliegenden sehr verschiedenen Stadien ohne bemerkenswerte Oeltröpfchen, aber fein granuliert (Fig. 8b).

Der Pilz fand sich auf kranken Früchten in Gemeinschaft mit fast allen hier beschriebenen Arten. Da er aber außerdem auch auf Früchten mit völlig entwickelten Samen vorkommt, so ist es fraglich, ob ihm eine pathologische Bedeutung beizumessen ist.

Mit den bekannten Arten stimmt unser Pilz nicht überein; am nächsten steht er noch dem *Colletotrichum exiguum* Penz.

et Sacc.; in Kamerun ist eine Art dieser Gattung noch nicht beobachtet worden.

Da der Pilz auf Kakaofrüchten sehr häufig ist, nennen wir ihn *Colletotrichum theobromae* n. sp.

Diagnose: Dichtgedrängte schwarze Flecken von 1–1,2 mm Durchmesser, aus denen die Konidienlager hervorbrechen, am Rande mit braun-schwarzen, mehrfach septierten, gleichmäßig dicken, lang zugespitzten Borsten, $60-75 \times 3 \mu$. Konidienträger kurz, unten verdickt, etwa 10μ lang. Konidien hyalin, länglich mit ungleich abgerundeten Enden, $9-12 \mu \times 3-5 \mu$, ohne Oeltröpfchen.

Auf Fruchtschalen von *Theobroma cacao* im botanischen Garten zu Viktoria sehr häufig.

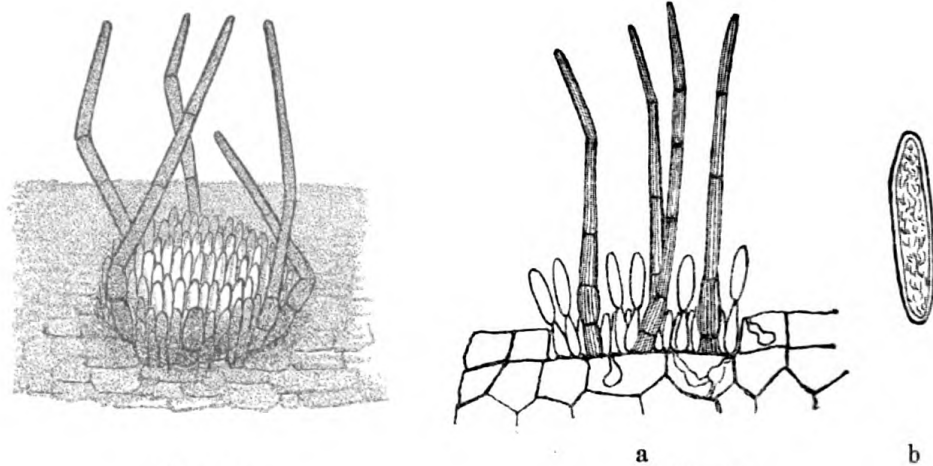


Fig. 7.

Fig. 8.

Piricularia caudata n. sp.

Auf abgestorbenen Kakaofrüchten von etwa 8 cm Länge, die bis zu diesem Stadium äußerlich normal entwickelt schienen, dann aber ihr weiteres Wachstum eingestellt hatten, fanden sich dunkle, nicht scharf umgrenzte Flecken mit einem dünnen weißlichen Ueberzug. Beim Durchschneiden zeigte sich, daß die Samenschalen, dem Stadium der Frucht entsprechend, entwickelt waren, aber keinen Inhalt hatten. In der die Samen umgebenden Pulpa war reichlich Mycel vorhanden; dasselbe war reich verzweigt, septiert und etwa 3μ dick. Dasselbe Mycel fand sich auch in der Fruchtschale, besonders reichlich in der Nähe des Stieles, von dem nur noch wenige morsche Reste übrig waren.

Die Untersuchung ergab, daß der weißliche Ueberzug der dunklen Flecke aus kurzen Mycelfäden von etwa $3-4 \mu$ Dicke besteht, von denen sich Konidienträger von etwa derselben Dicke und $0,1-0,15 \mu$ Länge erheben (Fig. 9a). Die Konidien sind keulenförmig, $36-45 \mu$ lang, zu einer langen, grannenartigen Spitze von etwa derselben Länge ausgezogen und $9-12 \mu$ dick; sie haben 2 bis 4 deutliche Querwände (Fig. 9b). Bei den

durchmusterten Präparaten war sehr häufig die Fußzelle der Konidien geschrumpft, so daß es den Anschein hat, als ob diese Zelle hinfällig und an den reifen Sporen nur noch rudimentär vorhanden wäre. Dasselbe Bild bot der grannenartige Fortsatz mit der ihm zunächst liegenden Zelle. Es traten daher häufig Konidien auf, bei denen die mittleren 2—3 Zellen kräftig entwickelt erscheinen und denen an beiden Enden die geschrumpften Zellen des Fußes und der Spitze ansitzen (Fig. 9c).

Wegen dieser eigentümlichen Konidienbildung wäre es vielleicht berechtigt gewesen, den Pilz als Repräsentanten einer besonderen Gattung aufzufassen. Da jedoch die Konidienform mit dem Charakter der Gattung *Piricularia* im allgemeinen übereinstimmt und auch bei einer Art, *P.*

oryzae Cavara, eine vorgezogene Spitze vorkommt, glaubten wir ihn zu dieser Gattung stellen zu müssen. (Schluß folgt.)

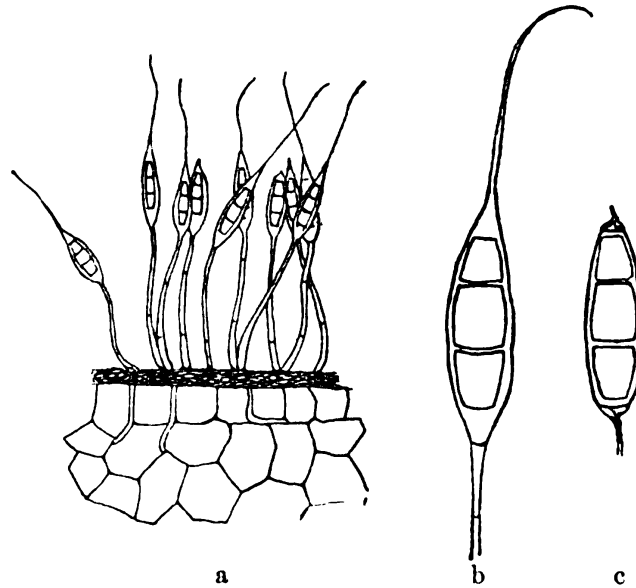


Fig. 9.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Thurstan, E. Paget, Lectures on Bacteria. [Forts.] The Adelaide University Extension Course. (Journ. of the Depart. of Agricult. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 5. p. 363—380. 16 Fig.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bergmann, Neues Trichinenmikroskop mit großem abnehmbaren Tisch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 4. p. 117—118. 2 Fig.)

Kaiser, W., Die Technik des modernen Mikroskopes. Aufl. 2. Lief. 5. Wien (Perles) 1903. 8°. 2 M.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Adler, Oskar, Ueber Eisenbakterien in ihrer Beziehung zu den therapeutisch verwendeten natürlichen Eisenwässern. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 277—287.)

- Arnheim, Julius und Rosenbaum, Adolf**, Ein Beitrag zur Frage der Zuckerzerstörung im Tierkörper durch Fermentwirkung (Glykolyse). (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XL. 1903. Heft 3/4. p. 220—233.)
- Arnheim, J.**, Beiträge zur Kenntnis der Autolyse. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XL. 1903. Heft 3/4. p. 234—239.)
- Barthel, Chr.**, Untersuchungen über die Mikroorganismen in der Stallluft, in der frisch gemolkene Milch und im Euter der Kuh. Aus d. Schwed. v. Joh. Kaufmann. 23 p. Leipzig (Heinsius Nachf.) 1903. 8°. (Aus: Milch-Ztg.) —, 60 M.
- Buchner, Eduard und Meisenheimer, Jakob**, Ueber die Enzyme von *Monilia candida* und einer Milchzuckerhefe. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XL. 1903. Heft 3/4. p. 167—175.)
- Centanni, Eugenio**, Ueber die Autozytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 3. p. 362—367.)
- Cole, Sydney, W.**, Contributions to our knowledge of the action of enzymes. P. 2. The influence of electrolytes on the action of invertin. (Journ. of physiol. Vol. XXX. 1903. N. 3/4. p. 287—289.)
- Dakin, H. D.**, The Hydrolysis of optically inactive esters by means of enzymes. Part 1. The action of lipase upon esters of mandelic acid. P. 1. (Journ. of physiol. Vol. XXX. 1903. N. 3/4. p. 252—263. 4 Fig.)
- Delbrück, M.**, Körperfremdes Eiweiß. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVI. 1903. N. 51. p. 537.)
- Ellis, David**, On the discovery of cilia in the genus *Bacterium*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 241—251. 7 Fig.)
- Fischer, Hugo**, Ueber Enzymwirkung und Gärung. (Sitzber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilk. zu Bonn 1903. 1. Hälfte. p. 12—18.)
- v. Freudenreich, Ed.**, Ueber das Vorkommen von Bakterien im Kuheuter. [Ref.] (Milch-Ztg. Jg. XXXII. 1903. N. 50. p. 789—791.)
- Garnier, Charles**, Recherche de la lipase dans les cultures de quelques espèces de *Sterigmatocystis*. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 34. p. 1490—1492.)
- , Lipase dans les cultures de quelques espèces d'*Aspergillus*. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 36. p. 1583—1584.)
- Glamann**, Die tierischen Schmarotzer der Schlachttiere und ihre Bedeutung für die Fleischschau. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischschau. Jg. IV. 1903. N. 4. p. 279—282.)
- Guilliermond**, Contribution à l'étude cytologique des *Ascomycetes*. (Compt. rend. Acad. des sc. T. CXXXVII. 1903. N. 22. p. 938—939.)
- van Hest, J. J.**, Quantitative Bestimmung der Hefenernte aus der Stickstoffaufnahme der Hefe und die Beziehung zwischen Alkoholbildung und Stickstoffaufnahme. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 1. p. 1—3.)
- , Bestimmung der Anzahl Hefenzellen in einem Liter obergäriger Anstellhefe auf praktischem Wege. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XX. 1903. N. 51. p. 614—617.)
- Laveran, A. et Mesnil, F.**, Sur un protozoaire nouveau (*Protoplasma Donovanii* Lav. et Mesn.) parasite d'une fièvre de l'Inde. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 23. p. 957—961. 16 Fig.)
- Léger, Louis**, Sporozoaire parasite des Moules et autres Lamellibranches comestibles. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 23. p. 1003—1006.)
- v. Linstow**, Neue Helminthen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 352—357. 8 Fig.)
- Mavrojannis**, Sur la nature des diastases microbiennes liquant la gélatine. (Compt. rend. soc. biol. T. LV. 1903. N. 36. p. 1605—1606.)
- Mazé**, Sur la fermentation forménique et le ferment qui la produit. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 22. p. 887—889.)
- Omellanski, W.**, Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 256—259.)
- Osterwalder, A.**, Beiträge zur Morphologie einiger *Saccharomyceten*-Arten, insbesondere zur Kenntnis unserer Obstweihen. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XVII. 1903. Heft 8. p. 419—440. 2 Taf.)
- Papenhause, Hubert**, Ueber die Bedingungen der Farbstoffbildung bei den Bakterien. (Arb. a. d. bakteriell. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. III. 1903. Heft 1. p. 43—100.)
- Preiss, H.**, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 3. p. 280—293. 2 Taf.)

- Rievel und Behrens**, Beiträge zur Kenntnis der Sarcosporidien und deren Enzyme (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 3. p. 341—352. 4 Fig.)
- Simon, F. B.**, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. N. 3. p. 308—316.)
- Smith, R. Greig**, A slime bacterium (*Bacterium persicae*) from the Peach, Almond and Cedar. (Proc. of the Linnean soc. of New South Wales for the year 1903. P. 2. p. 338—348.)
- Sollied, Peter Ravn**, Studien über den Einfluß von Alkohol auf die an verschiedenen Brauerei- und Brennereimaterialien sich vorfindenden Organismen, sowie Beschreibung einer gegen Alkohol sehr widerstandsfähigen neuen *Pediococcus*-Art (*Pediococcus Hennebergi* n. sp.). (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 1. p. 3—9.)
- Vigener, Josef**, Ueber dreikantige Bandwürmer und die sie bedingenden Finnen mit sechs Saugnäpfen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XIV. 1904. Heft 4. p. 106—109. 5 Fig.)
- Weis, Fr.**, Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). [Forts.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVI. 1903. N. 50. p. 853—858.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- v. Czadek, O.**, Ueber Trinkwasseruntersuchung. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VI. 1903. Heft 12. p. 797—807. 1 Fig.)
- O'Callaghan, M. A.**, Water for dairy purposes. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 10. p. 1003—1018. 23 Fig.)
- Buata, Guido Q.**, Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 287—293.)
- Thiele, E.**, Beiträge zur Methodik der Bodenforschung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 251—255.)

Milch, Molkerei.

- Bakteriologische Untersuchung sogenannter krankheitskeimfreier Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXII. 1903. N. 52. p. 818—819.)
- Dominikiewicz, Mieczyslaw**, *Bacterium lactis aërogenes* in der Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXII. 1903. N. 52. p. 817—818.)
- Helm, Wilh.**, Die Milchbehandlung. Praktische Erfahrungen. Leipzig (Heinsius Nachf.) 1903. 8°. 64 p. M. Fig. 1 M.
- Knoch, C.**, Das Kondensieren der Milch. [Schluß.] (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XVII. 1903. N. 50. p. 1093—1096. 3 Fig.)
- Lux, Arthur**, Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 267—277.)
- Rabinowitsch, Lydia**, Die Infektiosität der Milch tuberkulöser Kühe im Lichte der neueren Forschungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903. N. 8/9. p. 225—236.)
- Sewerin, S. A.**, Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 8/9. p. 260—266.)
- Teichert, Kurt**, Beiträge zur Biologie einiger in Molkereiprodukten vorkommenden Schimmelpilze. II. (Milch-Ztg. Jg. XXXII. 1902. N. 50. p. 786—788.)
- Wolf, J.**, Milchprüfungen mittels der Säuretitrierung nach Plaut. (Hyg. Rundsch. Jg. XIII. 1903. N. 24. p. 1217—1226.)

Wein, Weinbereitung.

- Canu, G.**, Examen microscopique des vins. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1902. N. 99. p. 396.)
- Delle, Ed.**, La coloration artificielle des vins. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 99. p. 396; N. 101. p. 404.)
- Malverin, Frantz**, Sulfitage et pasteurisation des vins de Sauternes. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 100. p. 400.)
- Manceau, Émile**, Sur les caractères des vins provenant de vignes atteintes par le mildew. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 23. p. 998—1000.)

Fleisch.

- Wilhelmy**, Die Bakterienflora der Fleischextrakte und einiger verwandter Präparate. (Arb. a. d. bakteriolog. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. III. 1903. Heft 1. p. 1—42. 3 Taf.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

- Lindner, C.** und **Matthes, P.**, Montanin, ein neues Desinfektionsmittel. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVI. 1903. N. 52. p. 547—548.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

- Chittenden, F. H.**, Notes on the larger sugar-beet leaf-beetle. (U. S. Depart. of Agricult. Divis. of Entomol. Bull. N. 40. N. Ser. 1903. p. 111—113. 4 Fig.)
 —, Some insects recently injurious to truck crops. (U. S. Depart. of Agricult. Divis. of Entomol. Bull. N. 40. N. Ser. 1903. p. 113—120. 6 Fig.)
Cobb, N. A., Letters on the diseases of plants. [Forts.] (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 10. p. 955—986. Fig. 72—102.)
Delacroix, G., Sur la jaunisse de la betterave. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 22. p. 871—372.)
 Die Hopfenwanze und die durch sie verursachte Unfruchtbarkeit des Hopfens. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 1. p. 13—15.)
Fletcher, James, Injurious insects of the year in Canada. (U. S. Depart. of Agricult. Divis. of Entomol. Bull. N. 40. N. Ser. 1903. p. 78—83.)
Froggatt, Walter W., Insectarium notes, and insects found about the Hawkesbury College. (Agricult. Gaz. of New South Wales. Vol. XIV. 1903. P. 10. p. 1019—1027, 2 Taf. u. Fig.)
Goričan, Franz, Einiges über die geeignetsten Unterlagen zur Rekonstruktion verseuchter Weingärten. (Weinlaube. Jg. XXXV. 1903. N. 50. p. 593—594.)
Hiltner, Soll man den Hopfen zur Verhütung der durch Blattläuse und Schwärze bedingten Gefahr mit Seifenlösungen bespritzen? [Forts.] (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 11. p. 121—126; Heft 12. p. 140—145.)
 Insect Pest Act. (Journ. of the Depart. of Agricult. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 5. p. 336—389.)
Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze Versuch einer Gesamtdarstellung ihrer biologischen Verhältnisse. Berlin (Bornträger) 1904. XXXVII, 447 p. 8°. 20 M.
Lounsbury, P., A new oak tree pest. The oast Phylloxera. The Agricult. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXIII. 1903. N. 6. p. 655—658. 1 Fig.)
Nilson, Birger, Die Flechtenvegetation von Kullen. Stockholm 1903. 8°. (Sep. aus: Arkiv f. Botanik. p. 467—496.) 1 M.
Smith, J. B., Mosquitocides. (U. S. Depart. of Agricult. Divis. of Entomol. Bull. N. 40. N. Ser. 1903. p. 96—108.)
Störmer, K., Die Dufoursche Lösung und ihre Anwendbarkeit zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jg. I. 1903. Heft 12. p. 133—138.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

- Appel, Otto** und **Strunk, H. F.**, Ueber einige in Kamerun auf Theobroma cacao beobachtete Pilze, p. 551.
Butjagin, B., Vorläufige Mitteilung über Sauerkrautgärung, p. 540.
Hefferan, Mary, A comparative and

- experimental study of bacilli producing red pigment. (Schluß), p. 520.
Sächting, H., Kritische Studien über Knöllchenbakterien. (Schluß), p. 496.
Vejdovský, F., Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung, p. 481.

Neue Litteratur, p. 413.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3^L.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XI. Band.

Jena, den 27. Februar 1904.

No. 19.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 80 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Mikrobiologische Gesellschaft zu Petersburg.

Sitzung vom 8. November 1903.

W. L. Omellanski, Ueber die histologischen und chemischen Veränderungen in den Flachsstengeln unter dem Einfluß der Bakterien der Pektin- und Cellulosegärung.

Zur Infektion der Flachsstengel dienten 1) Reinkultur der Flachs-röstebacillen (Friebes) und 2) mikroskopisch reine Kultur der Methangärungsbacillen der Cellulose (Omellanski). Die durch diese Bakterien hervorgerufenen Veränderungen in den Flachsstengeln — Zerstörung des zarten, mit Pektinstoffen imprägnierten Parenchyms durch den erstgenannten Bacillus und Zerstörung der Faserbündel durch den zweiten — dienten als Gegenstand einer Demonstration.

Zweite Abt. Bd. XI.

36

Hierbei wurden nicht nur die makroskopischen Resultate vorgeführt, sondern auch Querschnitte der Flachsstengel nach Behandlung mit den beiden Bakterienarten in Form von Projektionsbildern gezeigt. Schließlich wurden die Resultate der chemischen Untersuchungen in Kürze mitgeteilt.

Referate.

Demoussy, E. Sur la végétation dans l'atmosphère riche en acide carbonique. (C. R. Acad. Sc. Paris. 1903. T. CXXXVI. p. 325.)

Im Gegensatz zu früheren Autoren (Déherain und Maquenne, Brown und Escombe) kommt Verf. zu dem Resultat, daß in Atmosphäre mit abnorm reichlichem Kohlensäuregehalt (10:10000, 15:10000, 25:10000) die Versuchspflanzen sich üppiger entwickeln als in Atmosphäre von normaler Zusammensetzung. Verf. führt die negativen Resultate der genannten Autoren vermutungsweise auf Verunreinigungen der angewandten Kohlensäure zurück.

Küster (Halle a. S.).

Thiry, G., De la signification des bacilles violets dans les eaux d'alimentation. (Comptes rendus du Congrès des sociétés savantes de 1902. Paris 1903. p. 286—290.)

Aus allen eingegangenen Beobachtungen ergibt sich, daß ein gewohnheitsmäßiges und zahlreiches Vorkommen von violetten Bacillen in einem Wasser ein schlechtes Anzeichen für die Reinheit desselben ist. Bemerkenswert ist, daß diese Organismen besonders während der kalten Jahreszeit beobachtet worden sind. In diesem Zeitabschnitt sind die verflüssigenden Bakterien weniger tätig und lassen den violetten Bacillen Zeit, sich zu entwickeln und ihr Pigment zu bilden. In 543 untersuchten Fällen fanden sich in der Hälfte der Fälle violette Bacillen gleichzeitig mit *B. coli*.

Langeron (Paris).

Falvre, Etude bactériologique sur les eaux sulfureuses. (Comptes rendus du Congrès des sociétés savantes de 1902. Paris 1903. p. 70 à 75).

Die Wasser von Luchon berechtigen uns zu folgenden Schlüssen:

1) Die Quellen „Reine“ und „Blanche“ sind an ihren Austrittspunkten bakterienfrei.

2) Dieselben Wasser sind an der Einlaufstelle in die Badewanne durch gewöhnliche und Saprophytenarten verunreinigt. Es konnte noch nicht festgestellt werden, ob die Bakterien von den Wänden der Badewanne in die Leitungsröhren zurückgelangen und ob ihr Wachstum durch das allmähliche Sinken der Temperatur in der Leitung begünstigt wird.

3) Es finden sich Kristalle und Mucedineen in den Trinkhallen.

Es ist also angezeigt, die Wannen und Gläser sorgfältig zu spülen, ebenso die Leitungshähne abzubrennen und periodisch die

Leitungsröhren zu reinigen, um die Wässer vor jeder Verunreinigung zu schützen.

Die Art der Veränderlichkeit des Wassers der Quelle „Blanche“ erlaubt ein vollständiges Aufsaugen der Schwefeldämpfe und stellt die Quellen von Luchon in die erste Reihe ähnlicher Wässer.

Langeron (Paris).

Hinze, P., *Thiophysa volutans*, ein neues Schwefelbakterium. (Ber. d. d. bot. Ges. Bd. XXI. 1903. p. 309—316.) (1 Taf.).

Das neue Schwefelbakterium stammt aus dem Golf von Neapel, wo es auf feinkörnigem Sande in der Nähe submariner Schwefelquellen auftritt. Es ist ein einzelliger, meist kugelförmiger Organismus von 7—18 μ Durchmesser. Geißeln fehlen. Trotzdem ist die Zelle beweglich, ähnlich wie andere Beggiatoen, wenn auch in geringem Grade. Die Kugeln wälzen sich bald langsam und träge, bald ruckweise zwischen den Sandkörnchen umher. Die zarte, doppelt konturierte Membran der Zellen läßt bei Färbung mit Hämatoxylin drei sehr dünne Schichten unterscheiden und gibt, wie die Membran von *Beggiatoa mirabilis*, Pektinreaktion. Das Plasma bildet nur einen sehr dünnen Wandbelag, von dem nicht wie bei *Beggiatoa* Plasmafäden das Innere durchqueren. Die Thiophysazellen besitzen somit eine einzige große zentrale Vakuole. Plasmolyse konnte aber trotzdem auch hier nicht erzielt werden. Normalerweise ist der Wandbelag vollständig durchsetzt von zähflüssigen Schwefeltropfen. Dieser Schwefel scheint eine von dem *Beggiatoa*-Schwefel verschiedene Modifikation zu sein, da er im Gegensatz zu letzterem in konzentrierter Essigsäure teilweise löslich ist. Durch Uebertragen in reines Seewasser lassen sich die Schwefeleschlüsse nach einem oder mehreren Tagen zum Verschwinden bringen. In den entschwefelten Zellen bleiben stets zahlreiche kleine, mattglänzende Gebilde zurück, deren Natur und Bedeutung aber nicht ermittelt werden konnte. Außer diesen finden sich noch verschieden viel und große „Chromatinkörnchen“. Es ließ sich an einzelnen dieser Körnchen durch direkte Beobachtung eine Vermehrung mittels einfacher Durchschnürung feststellen. Mit der Beachtung dieses Punktes wird eine Forderung erfüllt, die bei fast allen Untersuchungen über Kernfragen bei bakterienähnlichen Organismen bisher ganz außer acht gelassen worden ist. Vermehrung durch Teilung ist das sicherste Zeichen dafür, daß nicht ein lebloses Stoffwechselprodukt, sondern ein aktives lebendes Gebilde vorliegt, was doch von einem Kern vor allem festgestellt werden muß. Die Zellteilung erfolgt nach bisquittförmiger Einschnürung des länglich gewordenen Individuums dadurch, daß sich an der Einschnürung „die junge Membran durch die Zelle hindurchzieht“. Nach vollendeter Membranbildung verschieben sich die Tochterzellen längs der Berührungsfläche und lösen sich schließlich unter rüttelnder Bewegung voneinander.

Hannig (Straßburg).

Ansai, Bakteriologische Untersuchung über Shoyu. (Mitteilungen der med. Gesellschaft zu Tokio. Bd. XVII. No. 6. p. 1.) [Japanisch.]

Shoyu ist ein aus Bohnen und Gerste zubereitetes Genußmittel, welches in der japanischen Küche nie fehlt. Dieses wurde aus 7 Quellen bezogen und einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen. In 1 ccm Shoyu sind 9280—19700 Bakterien enthalten. Am meisten sind Heubacillen, weniger *Bacillus mesentericus vulgaris* zu finden, aber keine pathogenen Mikroorganismen. Typhusbacillen können bei Zimmertemperatur von 25° im Shoyu 8 Tage, Choleravibrien 6 Tage und Diphtheriebacillen 12 Tage leben.

G. O s a w a (Tokio).

Happich, Ueber Milchbakterien. (Fortschritte der Veterinärhygiene. Jahrg. I. Heft 4.)

Während die Milch im Euter der gesunden Kuh noch vollkommen frei von Bakterien ist, können wir bereits einige Stunden nach dem Melken in jedem Kubikcentimeter Milch Zehntausende, ja sogar viele Millionen von Bakterien finden, welche durch die Hände der Melkerinnen, das Haarkleid der Kuh, die Stallluft und viele andere Vermittler in die Milch gelangen. Alle diese Bakterien teilt H. in 4 Gruppen ein: 1) indifferente B., 2) nützliche B. 3) schädliche B. und 4) Krankheitserreger. Zu der überaus reichhaltigen Gruppe der indifferenten Milchbakterien gehören *Micrococcus agilis*, *M. cinnabareus*, *M. roseus*, *M. luteus*, *M. chrysogloea*, dann die meisten Repräsentanten des Genus *Sarcina* u. s. w. Unter den nützlichen Bakterien stehen die Säureerreger obenan, deren man bereits etwa 50 verschiedene Arten isoliert hat. Unter den Milchsäurebakterien gibt es allerdings auch schädliche, welche außer Milchsäure noch Essigsäure, Ameisensäure, Alkohol etc. produzieren. Von großem Werte sind die Milchsäurebakterien bei der Bereitung von sog. Export- oder Sauerrahmbutter, die sich durch ihr spezifisches feines Aroma und ihre Haltbarkeit auszeichnet. Dank der sog. Reinkulturmethode von Storch und Weigmann, durch welche die nützlichen Säureerreger reingezüchtet werden, ist es möglich geworden, daß z. B. alljährlich viele Millionen von Kilo bester sibirischer Butter den Transport nach England tragen. Daß auch der gesamte Käsereifungsprozeß ein rein bakterieller Vorgang ist, ist bekannt; man spricht in der Praxis von Schimmel- oder von Bakterienkäsen, je nachdem welcher Pilzgruppe die Hauptarbeit bei diesem Prozeß zufällt. Es werden daher auch schon z. B. der französische Roquefort und Camembert und andere Arten von Käse mit künstlich kultivierten Pilzen fabrikmäßig mit bestem Erfolge bereitet. Beim Schweizerkäse, dessen Gärungserreger noch nicht ganz feststeht, ist man noch nicht so weit. Zu den nützlichen Bakterien gehören schließlich noch die Erreger verschiedener in Rußland gebräuchlicher Milchpräparate: Kefir, Kumis u. a., die alle mit Hilfe spezifischer Pilze oder Hefe bereitet werden.

Die schädlichen Bakterien zerfallen in 3 Hauptgruppen, solche, die Milch-, Butter- und Käsefehler hervorrufen. In der ersten Gruppe sind die Erreger der Farb- (rote, blaue und gelbe Milch) und der Geschmacksfehler (Milch von bitterem, saurem oder

laugigem Geschmack), sodann auch der Konsistenzfehler (schleimige und fadenziehende Milch) zu nennen. Ferner gehören hierher der Fehler der ranzigen, öligen, sauren und bitteren Butter, der Butter mit Rüb- oder Malzgeschmack, mit fauligem oder schimmeligem Geruch, selbst das streifige resp. marmorierte Aussehen der Butter kann durch Bakterien bedingt sein. Von den Käsefehlern, soweit solche durch Bakterien hervorgerufen werden, sind hervorzuheben das Auftreten roter, gelber, blauer, und schwarzer Flecke auf dem Käse, das durch gasbildende Bakterien bewirkte Blähen des Käses, die faulige Zersetzung etc.

Die krankheitserregenden Bakterien zerfallen in 2 Gruppen: 1) solche, die aus dem Tierkörper stammen und bei fieberhaften Allgemeinerkrankungen der Kühe und Erkrankungen des Euters mit der Milch ausgeschieden werden. Hierher gehören der Milzbrand- und der Tuberkelbacillus, der Erreger der Aphthen-seuche und die eitererregenden Trauben- und Kettenkokken u. a. Die zweite Gruppe bilden die Erreger, die erst nach dem Verlassen des Euters — durch infiziertes Meiereipersonal, Luft oder infiziertes Wasser — in die Milch gelangen. Der gefährlichste Repräsentant ist hier zweifellos der Typhusbacillus¹⁾.

J. Goldstein (Berlin).

Lindau, G. Hilfsbuch für das Sammeln der Ascomyceten mit Berücksichtigung der Nährpflanzen Deutschlands, Oesterreich-Ungarns, Belgiens, der Schweiz und der Niederlande. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1903.

Das vorliegende Büchlein bildet eine ergänzende Fortsetzung des vor einiger Zeit von demselben Verf. erschienenen „Hilfsbuchs für das Sammeln parasitischer Pilze“. Man durfte bei der ausgezeichneten Literaturkenntnis Lindaus von vorneherein eine sehr vollständige Zusammenstellung erwarten. Zu begrüßen ist vor allem das Streben, möglichst alle Substrate für die betreffenden Pilze zu ermitteln. Mit Ausnahme der Hypogäen, sind sämtliche Ascomyceten berücksichtigt. Auf Exkursionen sowohl wie zum orientierenden Nachschlagen zu Hause werden die beiden Hilfsbücher große Erleichterung gewähren. Die übersichtliche Gruppierung des II. Teiles in 1) pflanzliche, 2) tierische Substrate, 3) Mist, 4) Erde und anorganische Substrate trägt zur raschen Benutzung noch besonders vorteilhaft bei.

Bitter (Münster i. W.).

Beck, R. Beiträge zur Morphologie und Biologie der forstlich wichtigen Nectria-Arten, insbesondere der *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. (Tharander forstl. Jahrb. Bd. LII. 1903. p. 161—205. Taf. I.)

1) Der Verf., der seine hier referierte Arbeit im Anschluß an einen am 12. Mai 1903 in dem Hamburger biologischen Verein „über Milchbakterien“ gehaltenen Vortrag veröffentlicht hat, ist auf die wichtige Gruppe der krankheitserregenden Milchbakterien nicht näher eingegangen, weil diese Gruppe in Hamburg kurz vorher in einem Vortrag von anderer berufener Seite eingehend behandelt worden war.

D. Ref.

Verf. gelangt zu folgenden Ergebnissen:

Wie bereits von Mayr festgestellt worden ist, vermag *Nectria cinnabarina*, hauptsächlich charakterisiert durch die unter dem Namen *Tubercularia vulgaris* bekannten Konidienstromata, das Mycel im Holzkörper lebender Laubhölzer auszubreiten und verursacht hier eine Zersetzung des Inhaltes der parenchymatischen Zellen, die zur Folge hat, daß der angegriffene Teil des Holzkörpers sich braun, bei Ahorn grün färbt und seine Wasserleitungsfähigkeit verliert. Infolgedessen vertrocknet die umschließende Rinde und der über der erkrankten Partie gelegene Teil.

Bei saprophytischem Auftreten in bereits abgestorbenen Holzteilen tritt Verfärbung des Holzkörpers nicht ein. Das Mycel des Pilzes lebt hier unter Umständen ausschließlich im Rindenkörper.

Der Hinweis auf die Mitwirkung des Frostes bei auffallend umfangreichem und schädlichem Auftreten des Pilzes erscheint berechtigt.

Die Fruchtkörper des Pilzes treten zumeist auf der Rinde, aber auch auf von Rinde entblößtem Holze auf. Neben der häufigsten Fruchtform, den auf der Oberfläche der *Tubercularia*-Polster sich abschnürenden kleinen, einzelligen Konidien, bilden sich, sobald genügende Feuchtigkeit im Substrat und außerhalb desselben vorhanden ist, vor, neben oder nach der *Tubercularia*-Konidienproduktion größere, mehrzellige, zumeist gerad-cylindrische, bei Ahorn und Roßkastanie schwach sichelförmig gekrümmte Konidien, die in den Dauerzustand überzugehen vermögen. Perithezien entstehen selten, dann zumeist rasenweise im bezw. auf dem *Tubercularia*-Stroma, aber auch einzeln ohne Zusammenhang mit diesem, dann direkt der Rinde aufsitzend.

Die Fruktifikation scheint vom Substrat im allgemeinen, von der Species der Wirtspflanze im besonderen nicht unwesentlich beeinflusst zu werden. Hornbaum begünstigt im Vergleich zu Eiche, Ahorn, Esche und Roßkastanie jede Art der Fruchtbildung in hervorragender Weise, scheint also ein relativ wenig nährkräftiges Substrat zu sein.

Die Unterscheidung der 3 Species *N. cinnabarina*, *ditissima* und *cucurbitula* nach den Perithezien ist schwer, nach den Askosporen unmöglich.

H. Sydow (Berlin).

Farneti, R. *Intorno allo sviluppo ed al polimorfismo di un nuovo micromicete parassita.* (Atti Istit. bot. Pavia. N. Ser. Vol. VII. 1902. 42 pp. Tab. XVII—XX.)

Verf. beobachtete mehrere Jahre hindurch auf *Salvia horminum*, welche bei Pavia kultiviert wird, eine Krankheit, welche die Blätter früh zum Abfallen bringt. Auch die Stengel, Blattstiele und die neuen Triebe der Pflanze werden angegriffen, während die Wurzeln unter allen Umständen gesund bleiben, so daß sich die Pflanze durch frische Schößlinge erneuern kann.

Eine genauere Untersuchung lehrte jedoch, daß als Urheber der Krankheit 2 verschiedene Pilze in Betracht kommen, die aber in keinem genetischen Zusammenhange stehen und auch sonst nicht in abhängigem Verhältnisse zueinander stehen.

Zunächst treten auf der Blattunterseite kleine schimmelähnliche Polster auf, während sich auf der Blattspreite unregelmäßig begrenzte Flecken bemerkbar machen, die stets weiter um sich greifen. Der Pilz, *Oidium Hormini* n. sp., kann sich nur auf den lebenden Blättern entwickeln; totes Protoplasma und Zersetzungsprodukte des Zellinhaltes gewähren ihm keine Nahrung.

Gleichzeitig mit dem *Oidium* tritt auch ein zweiter Pilz auf, *Botrytis Hormini* n. sp., der mit jenem durchaus nicht in genetischem Zusammenhange steht und als Erreger der Krankheit („Fäule“) angesehen wird. Von diesem Pilze lassen sich mehrere Entwicklungsformen unterscheiden: 1) ein steriles, endophytisch parasitierendes Mycel, das sich durch Lostrennung einzelner Glieder vermehrt und bald die Form 2, bald die Formen 5–7 erzeugt; 2) eine Konidienform vom Typus der Gattung *Polyactis*, welche sich durch die Konidien weiter vermehrt; 3) eine Mikrokonidienform vom Typus der Gattung *Cristularia*, deren Mikrokonidien bald die Form 2, bald die Form 7 erzeugen; 4) eine Sclerotiumform; 5) eine Konidienform vom Typus der Gattung *Macrosporium*, deren Konidien bald dieselbe, bald die Form 6 bilden; 6) eine Konidienform vom Typus der Gattung *Alternaria*, welche sich durch ihre Konidien stets weiter fortpflanzt; 7) eine abnorme Konidienform, welche Verf. gamokladocephale merizospore Form nennt und welche zwiefache Vermehrungsorgane besitzt: entweder Konidien des Typus *Polyactis*, und diese erzeugen die Form 7 wieder, oder aber die Form 2, und Mikrokonidien nach dem *Cristularia*-Typus, welche die Formen 2 und 3 wieder hervorbringen.

Die Krankheit wird auf gesunde *Salvia*-Pflanzen durch den Kontakt mit dem sterilen Mycelium hervorgerufen. Niedere Temperaturen hemmen die Entwicklung des Pilzes. Temperaturschwankungen innerhalb 14°–20° C üben auf die Streckung der Hyphen keinen Einfluß aus. Das Längenwachstum ist an der Spitze der Hyphen am intensivsten, und nimmt von hier nach abwärts, bis etwa zur vierten Zelle, immer mehr ab, unterhalb welcher es nicht mehr meßbar ist. Die Wachstumstätigkeit erlischt nach 60–70 Stunden allmählich und hört nach einigen Tagen, jedoch nicht überall gleichzeitig, ganz auf.

Die von de Bary bei *Sclerotinia Libertiana* als Haftorgane gedeuteten Büschel von hakigen Hyphenzweigen sind noch unvollständig entwickelte Vermehrungsorgane, die nur unter eigenen Umständen zu Haftorganen werden können. Die Bildung dieser Vermehrungsorgane ist der Kladomanie des Konidienträgers zuzuschreiben, worauf eine Anastomose der Verzweigungen eintritt, das Endstück sich zu einem Sclerotium umwandelt und nachträglich Konidien abschnürt. Die verschiedenen Formen des Parasiten verhalten sich in verschiedener Weise; einige leben parasitisch, andere saprophytisch.

H. Sydow (Berlin).

Bandl, W. Beiträge zur Biologie der Uredineen [*Phragmidium subcorticium* (Schrack) Winter, *Puccinia caricis montanae* Ed. Fischer]. (Hedwigia. 1903. p. 119–152. [Zugleich Dissertation.])

Die im botanischen Institut der Universität Bern in den Jahren 1901 und 1902 ausgeführte Arbeit befaßt sich mit der Frage der Spezialisierung des Rosenrostes und der *Puccinia caricis montanae*. Sie zerfällt demnach in zwei Teile.

I. *Phragmidium subcorticium* (Schränk) Winter. Nach kurzer historischer Einleitung beschreibt der Verf. die vier bisher in Europa auf Rosen bekannt gewordenen Phragmidien, nämlich *Phragmidium subcorticium* (Schränk) Winter, *Phr. rosae-alpinae* (DC.) Winter (syn. *Phr. fusiforme* Schroet.), *Phr. tuberculatum* Jul. Müller und *Phr. bullatum* Westend. In fünfzehn verschiedenen Versuchsreihen in denen meist mit *Caeomasporen*, seltener mit *Uredosporen* von *Phragmidium subcorticium* operiert wurde, weist der Verf. nach, daß die genannte Art in zwei sich biologisch verschieden verhaltende Formen zerfällt. Mit Sporen des Rostes auf *Rosa cinnamomea* konnten regelmäßig erfolgreich infiziert werden: *Rosa cinnamomea*, *R. rubrifolia* und *R. pimpinellifolia*, nicht dagegen oder jedenfalls nur unregelmäßig: *Rosa centifolia*, *R. rugosa*, *R. canina* und *R. microphylla*. Umgekehrt erzeugten die Sporen von *Rosa canina* stammend eine positive Infektion auf *Rosa canina* und *R. centifolia*, dagegen wurde mit denselben keine oder doch nur eine ausnahmsweise Infektion auf *Rosa cinnamomea*, *R. rubrifolia*, *R. pimpinellifolia* und *R. microphylla* erzielt. Es liegen somit zwei Formen vor, deren eine auf *Rosa cinnamomea*, *rubrifolia* und *pimpinellifolia*, deren andere auf *Rosa centifolia* und *R. canina* lebt. Der Verf. hält es für wahrscheinlich, daß vermehrte Versuche noch weitere spezialisierte Formen erkennen lassen würden. Das vereinzelte Befallenwerden von *Rosa rubrifolia* durch die Form von *Rosa canina* führt der Verf. auf eine Versuchsverunreinigung zurück. Dagegen glaubt er, daß die vereinzelte Infektion von *Rosa canina*, besät mit Sporen der Form auf *Rosa cinnamomea*, auf eine noch nicht völlig abgeschlossene Spezialisierung dieser letzteren Form schließen lasse.

Außerdem ließ sich in den obengenannten Versuchen die interessante Tatsache einer wiederholten *Caeomabildung*, wie sie bereits für einige Rostpilze bekannt ist, feststellen, und zwar konnte in einigen Fällen eine zweimalige, in dreien Fällen eine drei- resp. viermalige Aufeinanderfolge der *Caeomageneration* konstatiert werden. Da nach des Verf. und anderer Beobachtungen die *Uredosporen* nur eine mangelhafte Keimfähigkeit besitzen und die *Teleutosporen* ihre Keimkraft ganz eingebüßt haben sollen, so scheint sich die Vermehrung und Erhaltung des Rosenrostes vorzugsweise durch die *Caeomasporen* wie auch durch das perennierende Mycel zu vollziehen.

II. *Puccinia caricis montanae* Ed. Fischer. Unter Bezugnahme auf Ed. Fischers Arbeiten über die Zusammengehörigkeit der *Teleutosporen* von *Carex montana* mit den Aecidien auf *Centaurea montana* und *Cent. scabiosa* und die daran geknüpften Mutmaßungen, daß *Puccinia caricis montanae* sich aus zwei biologischen Arten zusammensetze und daß ferner der

Standort der Nährpflanze einen Einfluß auf deren Prädisposition dem Pilz gegenüber ausübe, stellte sich der Verf. die Aufgabe, den Kreis der Nährpflanzen genau festzusetzen und den Einfluß des Standortes auf die Prädisposition von *Centaurea montana* genauer kennen zu lernen. In zwölf Versuchsreihen, in denen teils Teleutosporen von *Carex montana*, teils Aecidiensporen von *Centaurea montana* zur Verwendung kamen, gelangte der Verf. zu folgenden Schlüssen: *Puccinia caricis montanae* zerfällt in zwei spezialisierte Formen oder sog. Gewohnheitsrassen. Beide Formen bilden ihre Uredo- und Teleutosporen auf *Carex montana*, können indes auch auf *Carex alba* wenigstens in der Urediform leben. Die eine erzeugt ihre Aecidien auf *Centaurea montana*, die andere auf *Centaurea scabiosa*. Indessen kann die erstere auch vereinzelt auf *Centaurea scabiosa* übergeben und ebenso ließ sie sich übertragen auf *Centaurea scabiosa* var. *albida*, *C. scabiosa* var. *alpestris*, *C. axillaris*, *C. melitensis*, *C. nigrescens* und *C. amara*.

Eine verschieden stark ausgeprägte Prädisposition der Versuchspflanzen hinsichtlich ihres Standortes resp. ihrer Herkunft konnte nicht festgestellt werden. Jacky (Bern).

Cavara, F., *Riccoa aetnensis* Cav. nouveau genre de champignons du Mont Etna. (Annales Mycologici. Vol. I. No. 1. p. 41—45.)

Verf. beobachtete auf dem Aetna, 2800 m über dem Meerespiegel, einen Pilz, der auf den dort lagernden Steinen wächst und die ihm nötige organische Stickstoffnahrung durch die Entleerungen der passierenden Maulesel und Pferde erhielt. Verf. erkannte darin eine neue Gattung, die den Stilbeen, namentlich der Gattung *Heydenia*, verwandt erscheint. Er nennt sie *Riccoa*. Die Fruchtkörper haben einen festen, pseudoparenchymatösen Stiel, der sich nach oben in den die Sporen tragenden Diskus erweitert. Die Sporenträger selbst sind fädig, einfach, klein, locker ineinander verflochten, aber schließlich frei; die Sporen selbst sind seitenständig und mehrreihig, aber nicht kettenförmig aneinandergereiht. Die Art nennt Verf. *Riccoa aetnensis* Cavara.

P. Magnus (Berlin).

Ward, Marshall, Further observations on the brown rust of the bromes, *Puccinia dispersa* (Erikss.) and its adaptive parasitism. (Annales mycologici. Vol. I. 1903. p. 132—151.)

Die Arbeit zerfällt in zwei Abschnitte: Im ersten sucht Verf. zu ermitteln, wodurch die scheinbare „Launenhaftigkeit“ keimender Uredosporen begründet ist, d. h. die Erscheinung, daß unter scheinbar vollkommen gleichen äußeren Bedingungen die Keimung vieler Uredosporen einmal vollkommen glatt verläuft, das andere Mal ohne erkennbare Veranlassung ausbleibt. Ohne eine absolut befriedigende Antwort geben zu können, glaubt Verf. aus seinen Versuchen den Schluß ziehen zu können, daß häufig ein notwendiger Faktor für die Keimung eine durch einen gewissen Grad von Austrocknung bewirkte Ausreifung der Sporen ist, wie sie in der

Natur zu stande kommt, wenn Sporen vom Wind übertragen werden. Zugleich kam Verf. zu dem bemerkenswerten Resultat, daß Uredosporen von *P. dispersa* — mit diesen wurden obige Versuche angestellt — ihre Keimfähigkeit unverändert, einen, unter Umständen sogar zwei Monate lang bewahren, also viel länger als man bisher annahm. Der zweite Abschnitt der Arbeit beschäftigt sich mit der Spezialisierung des Parasitismus bei den Rassen des Braunrostes.

Den von Freeman beobachteten Fällen, nach welchen es für die an gewisse *Bromus*-Arten als Wirtspflanzen streng gebundenen Rassen des Braunrostes Bindeglieder gibt in Form von *Bromus*-Arten, welche von den Sporen sowohl der einen wie der anderen Rasse infiziert werden, fügt Verf. eine Reihe von neuen Fällen bei und erläutert die ganze Frage der „bridgeing species“ — überbrückende Arten, wie er sie nennt — an der Hand seiner außerordentlich zahlreichen Infektionsversuche (nahezu 5000), bei welchen alle *Bromus*-Arten, welche ihm zugänglich waren, verwendet wurden. So ergab sich z. B.: *Bromus secalinus* (der Sekt. *Serrafalcus* angehörig) wird infiziert von Uredosporen, welche sich auf anderen Arten der gleichen Sektion, z. B. auf *B. arvensis*, *B. mollis*, *B. brizaeformis* etc. gebildet haben, zugleich aber auch von Uredosporen, welche von *B. diandrus* (Sekt. *Stenobromus*) oder von *B. arduensis* (Sekt. *Libertia*) stammten. *B. secalinus* wäre also eine „bridgeing species“.

Auf diese Weise wäre es auch denkbar, daß Uredosporen von *B. sterilis* (Sekt. *Stenobromus*) den *B. arduensis* var. *villosus* (Sekt. *Libertia*) infizieren, die hier gebildeten Sporen weiter *B. arduensis*; von hier könnte der Pilz übergeben auf *B. secalinus* (Sekt. *Serrafalcus*), von hier weiter auf *B. carinatus* (Sekt. *Ceratochloa*). Es scheint mir nicht zweifelhaft, daß ähnliche Verhältnisse auch in anderen Pilzfamilien bestehen, z. B. bei den Erysipheen. Dies würde erklären, wie es kommt, daß (scheinbar) ein und derselbe Pilz auf zwei verschiedenen Wirtspflanzen vorkommt, ohne daß es gelingt, denselben mittelst der Konidieninfektion von einer Pflanze auf die andere zu übertragen. Hier wäre also gleichfalls nach den „überbrückenden“ Arten zu suchen¹⁾. Für die Frage der Spezialisierung des Parasitismus ist die Entdeckung dieser vermittelnden Arten sehr wertvoll, wenn auch das ganze Problem dadurch nicht nur nicht vereinfacht wird, sondern sich im Gegenteil immer verwickelter gestaltet.

Neger (Eisenach).

Noell, A., *Aecidium Biscutellae* n. sp. (Separatabdruck aus *Malpighia*. Vol. XVI. 1902. 2 p.)

Beschreibung eines neuen *Aecidium*s, *Aec. Biscutellae*, das mit Pseudoperidien, Spermogonien und Aecidiosporen auf *Biscutella laevigata*, allerdings sehr selten, auftrat. Diese Art erinnert in mehreren Hinsichten an *Aecid. Isatidis* (s. dieses

¹⁾ Von Salmon wurden inzwischen ähnliche Erscheinungen für die Mehltäupilze nachgewiesen.

Centralbl., Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 857), doch unterscheidet es sich z. B. durch die geringere Anzahl der Pseudoperidien in jeder Hecke, den abgerundeten Rand derselben und die kugeligen, an den Kanten nicht verdickten Sporen. Pantanelli (Zürich).

Mayor, Eug. Contribution à l'étude des Urédinées de la Suisse. (Bull. de la Société neuchâteloise des Sc. nat. T. XXIX. 1901. p. 67—71, cum Tab.)

Besprochen werden:

Puccinia pileata nov. spec. auf Blättern von *Epilobium spicatum*, gefunden bei Zermatt.

Pucc. Scillae Linh. auf Blättern von *Scilla bifolia*, neu für die Schweiz.

Pucc. Dubyi Müll.-Arg. auf Blättern von *Androsace lactea*.

H. Sydow (Berlin).

Ewert, Das Auftreten von *Cronartium ribicolum* auf verschiedenen *Ribes*-Arten in den Anlagen des kgl. pomolog. Instituts zu Proskau. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1903. Heft 2. p. 92.)

Die vom Verf. zusammengestellte kleine Befallstatistik bestätigt die Beobachtungen Hennings', daß der Befall der *Ribes*-Pflanzen durch die Uredoform des Weymuthskiefernblasenrostes bezüglich Frequenz und Intensität nach Species und Sorte des Wirtes wechselt. Johannisbeeren neigen viel mehr zum Befall als die Stachelbeeren; geschützt scheint von ersteren die nach Maurer von *Ribes petraeum* abstammende langgriffelige rote holländische Johannisbeere. Frühzeitige Entblätterung fand durch *Cronartium* nirgends, wohl aber an kurzgriffeligen Sorten durch *Gloeosporium* statt.

Beck (Tharandt).

Aderhold, R. II. Beitrag zur Pilzflora Proskaus. (Sitzungsberichte der schlesischen Gesellschaft für vaterländische Kultur für 1902. Breslau 1903. 9 p.)

Nachdem im Jahre 1900 vom Referenten in einem I. Beitrag zur Pilzflora Proskaus eine Liste von 431 im Proskauer Gebiete beobachteten Arten veröffentlicht worden war¹⁾, erfährt die genannte Arbeit durch diesen II. Beitrag eine wertvolle Ergänzung. Von den 140 aufgezählten Arten sind 24 schon im I. Beitrag enthalten, währenddem 116 Arten für Proskau neu sind. Neben dem Verf. hat namentlich Herr Seminarlehrer Buchs eifrig gesammelt und seine Aufmerksamkeit vorwiegend der Familie der Agaricaceen geschenkt, von denen allein 60 Arten angeführt sind. Als Finder sind außer den beiden genannten noch die H. H. Hermann, Kothe, Kinzel und der Ref. erwähnt.

Für Oberschlesien neu sind zwei Arten, nämlich *Auricularia mesenterica* Dicks. auf *Tilia* und *Ceratomyces albus* (Corda) Sacc. Neu aufgestellt werden *Cercospora Chaerophylli* Aderh. auf *Chaerophyllum temulum* und *Sporodesmium Scorzonerae* Aderh. auf *Scorzonera hispanica*. Von Schädlingen der Kulturpflanzen sind erwähnenswert: *Valsa cincta* Fries in f. *conidiophora* *Cytospora rubescens*

1) Siehe Referat in dieser Zeitschrift. Bd. IX. 1902. p. 688.

Fries auf im Frühjahr gepflanzten und nicht angewachsenen Apfelwildlingen, *Septoria ribis* Desm. verheerend auf *Ribes grossularia*, *Gloeosporium truncatum* (Bon.) Sacc. epidemisch auf *Vaccinium vitis idaea*, *Didymaria prunicola* Cav. auf einem Triebe von *Amygdalus communis*, *Ramularia Primulae* Thüm. auf *Primula auricula*, *Ramularia Rhei* Allesch. auf *Rheum undulatum*, *Fusarium gemmiperda* Aderh. auf Früchten der Weichselkirsche, sowie die schon genannte neue Art *Sporodesmium Scorzoneræ* Aderh.

Dem vom Verf. geäußerten Wunsche, daß die begonnene Liste durch Herrn Seminarlehrer Buchs fortgeführt werden möchte, schließt sich der Ref. an ¹⁾. Hoffentlich folgt dem zweiten Beitrag bald der dritte.

Jacky (Bern).

Long, William H. jr. The Ravenelias of the United States and Mexico. (Bot. Gazette. Vol. XXXV. 1903. No. 2. p. 111—133. Tab. II—III.)

Die Abhandlung ist vorwiegend systematischen Charakters. Nach einleitenden Bemerkungen wird zunächst ein Schlüssel über die 3 vom Verf. unterschiedenen Gattungen und ein solcher über die einzelnen Species gegeben.

Bisher vereinigte man alle köpfchenbildenden und mit Cysten versehenen Uredineen in die eine Gattung *Ravenelia*. Dieselbe wird nunmehr in 3 Gattungen zerlegt:

Ravenelia. Alle Teleutosporen im Köpfchen 1-zellig; Aecidien, wenn vorhanden, mit gut entwickeltem Pseudoperidium.

Pleoravenelia. Innere Teleutosporen im Köpfchen 2-zellig; Aecidien wie bei *Ravenelia*.

Neoravenelia. Alle Teleutosporen im Köpfchen 1-zellig; Aecidien ohne Pseudoperidium.

Aufgeführt werden:

Ravenelia texana Ell. et Gall. auf *Desmanthus* oder *Cassia* in Texas.

R. longiana Syd. auf *Cassia Roemeriana* in Texas.

R. indica Berk. auf *Cassia Abrus* in Mexiko.

R. siliquae nov. spec. auf *Acacia Farnesiana* in Mexiko.

R. versatilis (Peck) Diet. auf *Acacia Greggii* in Texas, Kalifornien, Arizona.

R. Farlowiana Diet. auf *Acacia anisophylla* und *crassifolia* in Mexiko.

R. opaca (Seym. et Earle) Diet. auf *Gleditschia triacanthos* in Illinois.

R. verrucosa Cke. et Ell. auf *Leucaena lanceolata* in Mexiko.

R. expansa Diet. et Holw. auf *Acacia tequilina* in Mexiko.

R. Mimosaesensitivae P. Henn. auf *Mimosa albida* in Mexiko.

R. cassiaeicola Atk. auf *Cassia nyctitans* in Alabama und Mississippi.

R. mesillana Ell. et Barth. auf *Cassia bauhinioides* in Neu-Mexiko.

R. fragrans nov. spec. auf *Mimosa fragrans* in Texas.

R. spinulosa Diet. et Holw. auf *Cassia Lindheimeriana* und multiflora in Texas, Mexiko.

R. arizonica Ell. et Ev. auf *Prosopis juliflora* und *velutina* in Texas, Arizona.

R. appendiculata Lagh. et Diet. auf *Phyllanthus galeottinus* in Mexiko, Ph. spec. in Ecuador.

R. mexicana Tranzsch. auf *Calliandra grandiflora* in Mexiko.

R. Leucaenae nov. spec. auf *Leucaena diversifolia* und spec. affin. in Mexico.

¹⁾ Infolge Wegzuges des Herrn Seminarlehrers Buchs von Proskau wird dieser Wunsch leider hinfällig. (Ref.)

- Pleoravenelia laevis* (Diet. et Holw.) Long auf *Indigofera densifolia* et spec. affin. in Mexiko.
Pl. similis nov. spec. auf *Brongniartia* spec. in Mexiko.
Pl. epiphylla (Schw.) Long auf *Tephrosia virginiana*, *hispidula*, *spicata* in vielen Staaten Nord-Amerikas.
Pl. Indigoferae (Tranzsch.) Long auf *Indigofera cuernavacana* und *Palmeri* in Mexiko.
Pl. Brongniartiae (Diet. et Holw.) Long auf *Brongniartia sericea*, *intermedia* in Mexiko.
Pl. talpa nov. spec. auf *Tephrosia talpa* in Mexiko.
Neoravenelia Holwayi (Diet.) Long auf *Prosopis juliflora* in Texas, Californien.

Alle Species werden ausführlich beschrieben ; zahlreiche kritische Bemerkungen vervollständigen diese wertvolle monographische Bearbeitung der nordamerikanischen Ravenelien.

H. Sydow (Berlin).

Preuss, Paul, Ueber Pflanzenschädlinge in Kamerun. (Tropenpflanzer. Zeitschr. f. tropische Landwirtschaft. Bd. VII. 1903. p. 345—361.)

Mannigfache Pflanzenschädlinge sind in den aufblühenden Plantagen von Togo und Kamerun in geradezu besorgniserregender Weise aufgetreten. Daher hat auch das kolonialwirtschaftliche Komitee Veranlassung genommen, die Entsendung einer phytopathologischen Expedition dorthin ins Werk zu setzen. Diese soll nun in erster Linie die Lebensweise und die Art des Auftretens der Schädlinge studieren, welche den Kakao, die Kautschukpflanzen, den Kaffee, die Kokospalme, die Baumwolle u. a. m. befallen; weiterhin sollen natürlich auch wirksame Gegenmittel zur Bekämpfung der Schädlinge ausfindig gemacht werden.

Verf. sucht daher einstweilen einen nützlichen Ueberblick zu geben über alle Beobachtungen, welche bisher über Pflanzenschädlinge in Kamerun gemacht worden sind. Diese sind in den amtlichen Berichten über den botanischen Garten in Victoria-Kamerun vom Verf. als dessen Leiter in aller Kürze bereits besprochen worden; die vorliegende Abhandlung ist daher im wesentlichen eine durch neuere Beobachtungen vervollständigte, zusammenfassende Wiedergabe aller jener Kapitel.

Es ist nun vor allem nach dem Verf. bemerkenswert, daß man weder in Kamerun noch in Togo von einem Einschleppen von Pflanzenkrankheiten reden kann. Alle Schädlinge stammen vielmehr aus Westafrika selbst. Sie gehören entweder dem Tierreiche an, wie Käfer, Schmetterlinge, Wanzen, Schildläuse und andere Insekten, desgleichen Nagetiere u. dergl. mehr, oder sie entstammen dem Pflanzenreiche, wie beispielsweise die Pilze, Flechten, Moose und andere Schmarotzer und Epiphyten.

Besonders schlimme Erfahrungen hat man bislang mit Käferlarven und Pilzen gemacht, so daß die Kultur einiger Nutzpflanzen wegen der in den betreffenden Beständen angerichteten Verheerungen vorläufig wenigstens hat aufgegeben werden müssen.

Dazu gehören nach den Mitteilungen des Verf. mehrere Kaffeearten. Als großer Schädling hat sich der in ganz Westafrika einheimische und zuerst von der Sierra Leone her bekannt gewordene

Bockkäfer, *Monorhammus sierricola* oder *Bixadus sierricola* (cf. Fig. 1 der beigegebenen Zeichnungen) in den Plantagen eingenistet. Es ist seinem etwas größeren ostafrikanischen Vetter, *Herpetophagas fasciatus*, welcher die dortigen Kaffeepiantagen schädigt, im Aussehen ähnlich und führt genau dieselbe Lebensweise wie jener.

Die verschiedensten bisher angewandten Bekämpfungsmaßregeln sind bisher ohne jeden Erfolg geblieben.

In unbedeutender Weise ist alsdann der **Liberiakaffee** von einer bisher nur selten auftretenden Käferlarve heimgesucht worden. Ob sie zu *Bixadus sierricola* oder etwa *Sternotomis imperialis* (cf. Fig. 2) oder noch anderen Arten gehört, konnte noch nicht genauer festgestellt werden.

Der **Kakao** hatte anfangs nur wenig unter Schädlingen zu leiden. Neuerdings ist der Schaden (durch **Kakaoböhrer**, **Rindenwanzen**, **Pilze** etc.) teilweise recht empfindlich geworden.

Auch **Spitzmäuse**, **Ratten**, **Erdferkel**, **Eichhörnchen**, **Taschenkrebse**, **Landkrabben** und wohl auch **Stachelschweine** können dem **Kakaobaume** sehr gefährlich werden.

Es werden sodann **Grillen**, **Schmetterlinge**, **Wanzen**, **Bockkäfer** ausführlicher besprochen; ebenso eine Art **Engerlinge** (unseren **Junikäferlarven** ähnliche **Camenta**-Art, u. ev. auch **Schizonycha**-Art) und verschiedene **Ameisenarten**.

Auch **Säugetiere** (**Quastenstachler**, **Elefant** etc.) müssen als direkte oder indirekte **Kakaoschädiger** berücksichtigt werden.

Die Zahl der aus dem Pflanzenreiche stammenden, bis jetzt beobachteten **Kakaoschädlinge** ist weniger groß, als die genannten tierischen, jedoch sind im allgemeinen die ersteren mehr zu fürchten, als die letzteren.

Die auf den Bäumen sich ansiedelnden **Loranthaceen**, deren Samen durch Vögel verschleppt werden, können allerdings nach dem Verf. nur bei großer Unachtsamkeit der Pflanze nennenswerten Schaden anrichten; auch die **Moose**, die sich vielfach an den Stämmen festsetzen, können leicht entfernt werden, desgl. **epiphytische Bromeliaceen**, **Araceen** etc.

Gefährlich können hingegen verschiedene **Pilze** werden, deren man sich nur schwer erwehren kann und welche wohl im Stande sind, einen großen Teil der Ernte zu vernichten, und dadurch den Pflanze zu ruinieren.

Je nach der Art ihres Vorkommens kann man unter den schädlichen **Pilzen** drei Gruppen unterscheiden: 1) solche, an den Wurzeln, 2) solche an dem Stamme und Aesten, 3) solche an den Früchten. **Blattpilze** sind beim **Kakao** bislang noch nicht bekannt.

Beim Auftreten des **Wurzepilzes** ist das Aussehen der abgestorbenen, mit tiefbraunen Blättern behangenen Bäume sehr charakteristisch. Die Wurzel dieser Bäume erweist sich zumeist als verfault und an der Rinde und dem Holze findet sich ein weißliches **Pilzmycel**. Ein ähnlich auftretender Pilz ist von **Granada** her bekannt; dort soll er zu den **Polyporeen** gehören. Die an den Stämmen und Aesten auftretenden Pilze scheinen verschiedener

Art zu sein: Einer von ihnen dürfte nach dem Verf. mit den von Trinidad (cf. Hart, Cacao disease. Trinidad 1901. Bot. department) und Granada her bekannt gewordenen *Nectria theobromae* und *Calonectria flavida* nahe verwandt und ebenso wie diese imstande sein, Bäume zu töten.

Der gefährlichste von allen Kakaoschädlingen ist jedoch der an den Früchten erscheinende Pilz, welcher das Braunwerden derselben verursacht, eine Krankheit, für welche Verf. vorläufig den Namen „Braunfäule“ gewählt hat. Näheres über den Pilz und seine Bekämpfung ist noch bekannt.

Auch bedarf es noch genauerer Untersuchungen, inwieweit andere Pilze (*Diplodia cacaoicola* und *Botryodiplodia cacaoicola* als wirkliche Krankheitserreger anzusprechen sind, oder etwa nur sekundäre Begleiterscheinungen anderer Krankheiten vorstellen.

Bei den Kautschukpflanzen pflegen nach den Beobachtungen des Verf. als Schädlinge Bockkäfer (*Inesida leprosa* (cf. Fig. 4); eine *Phrystola*-Art; *Petrognatha gigas* var. *spinosa* Fig. 5), ferner Raupen eines Kleinschmetterlings (*Glyphodes ocellata* oder verwandte Art und Schnecken aufzutreten. In gleicher Weise werden Guttaperchapflanzen von dem genannten Schmetterling und auch von Schnecken heimgesucht.

Von den Schattenbäumen in den Kakaopflanzungen werden sämtliche *Erythrina*-arten erstens durch weiße Schmierläuse, zweitens durch kleine Raupen befallen, welche die Wachstumsspitzen abfressen und das Wachstum der Bäumchen in der Jugend empfindlich beeinträchtigen.

Auf den Blättern der Vanille wieder findet sich eine Flechte, welche auch auf die Früchte übergeht und deren Präparation erschwert. Die Blätter der Mangobäume, des Kaffees und auch einzelner Palmen werden bisweilen von einem schwarzen, nicht näher bekannten Pilze vollständig überzogen.

Zum Schlusse werden die Maßregeln des näheren erörtert, welche zu ergreifen sind, um den mannigfachen Pflanzenschädigern nach Möglichkeit entgegenzuarbeiten. Dazu gehört vor allem auch eine geeignete Aufklärung und Belehrung der Eingeborenen, deren Pflanzungen meist außerordentlich stark verseucht sind; ebenso natürlich auch eine weitere Instruierung der weißen Pflanzler.

Wenn auch die Beobachtungen des Verf. leicht erklärlicherweise noch manche Lücke aufweisen und der Vervollständigung bedürfen, so können sie doch sicherlich eine gute Grundlage für weitere Arbeiten abgeben.

Heinze (Halle a. S.).

v. Istvánffi, Julius, Ueber neue Weinrebenschädlinge in Ungarn. (Vortrag, gehalten am 11. März 1903 in der botanischen Sektion der kgl. ungarischen naturwissenschaftlichen Gesellschaft zu Budapest, kurz wiedergegeben in Magyar botanikai lapok [= Ungarische botanische Blätter]. Jahrg. II. Budapest 1903. No. 4. p. 133—134.)

1. *Ithyphallus impudicus* (Gichtpilz) sendet aus dem blaßroten *Myceliumknäuel* an die Wurzeln des Weinstockes

Haustorien, diese dringen ein und führen die Zerstörung herbei. Der Pilz ist in Weingärten gemein.

2. Die Milbe *Coepophagus echinopus*, bisher in Ungarn nicht beobachtet, zerstört die so befallenen Wurzeln noch weiter, doch tritt dieses Tier bisher nur spärlich auf.

Matouschek (Reichenberg).

Prunet. Sur une maladie des rameaux du figuier. (C. R. Acad. Sc. Paris. 1903. T. CXXXVI. p. 395).

In den vom Verf. studierten Fällen waren die Früchte von *Ficus carica* mit *Botrytis* (*vulgaris*?) durchwuchert. Von den Früchten aus wurden auch die Zweige der Feigenbäume infiziert.

Aus den Infektionsversuchen des Verf. ergibt sich, daß *Botrytis* erst nach saprophytischem Vorleben die lebenden Teile der Wirtspflanze anzugreifen vermag. Küster (Halle a. S.).

Aderhold, Rud., Ueber eine bisher nicht beobachtete Krankheit der Schwarzwurzeln. (Arbeiten a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. am kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. III. Heft 4. p. 439.)

Die Pflanzen der Schwarzwurzelkulturen des königl. pomologischen Institutes zu Proskau bekamen 1901 an den Blättern und Stengeln Hunderte von rundlichen, punkt- bis wickenkorngroßen, blutrot umrandeten, lederbraunen Flecken, infolgedessen größere oder kleinere Blatteile, nicht selten auch die oberen Partien der Pflanzen vorzeitig vertrockneten. Den auf den Flecken immer auftretenden und als Urheber der Erkrankung anzusehenden Pilz bestimmte Verf. als *Sporidesmium* und nennt ihn *Sp. Scorconerae* n. sp. Aus der Diagnose sei das die Species auszeichnende haarartige Auswachsen der Sporen hervorgehoben. Bekämpfung der Krankheit durch Bespritzung mit Bordeauxbrühe ist wahrscheinlich erfolgreich, aber noch nicht versucht. Beck (Tharandt).

Voglino, P., Sulla batteriosi delle lattughe. (Annali d. R. Accademia d. Agricoltura di Torino. 1903.)

Verf. beschreibt eine Krankheit, die seit 10 Jahren in den Turiner Gärten den Lattich, besonders im Sommer, auf stark gedüngten, feuchten Böden vernichtet. Der geringste Stoß genügt, um den jungen Scheitel mit sämtlichen schon entwickelten Blättern fallen zu lassen, so daß die mit Hohlräumen durchsetzte, braune oder rotgelbe, halbverfaulte Gewebe zum Vorschein kommen. Das erste Anzeichen der Krankheit ist eine rötliche Färbung der Rindengewebe. Die inneren Gewebe des Sprosses und der Blattgründe werden ganz dünn und höhlig, obwohl sie nie vollständig zerstört werden, während die Wurzeln ganz gesund bleiben. In der angegriffenen Rinde des Stengels werden die Zellen aus ihrem Verband durch zahllose Bakterien losgelöst und desgleichen sind die meristematischen Gewebe zum Teil durch Bakterienhaufen ersetzt. Es findet also eine allmähliche Mazeration der Achse statt, so daß nur Milchgefäße, Bast und Holz zurückbleiben. — Die Bakterien sehen den Stäbchen der „jaunisse“ der Runkelrüben sehr ähnlich, ließen sich auf unbenannten Sub-

straten kultivieren und sogar die Infektion gesunder Pflanzen mit Kulturösen war erfolgreich. — Verf. empfiehlt, den Boden mit Phosphor-Stickstoffdünger + Kaliumchlorid, nicht aber zu stark, zu düngen. Pantanelli (Zürich).

Dreyer, A., Mitteilung über den Rußtau: *Capnodium salicinum* Mont. (Bericht über die Tätigkeit der St. Gallischen naturwissenschaftlichen Gesellschaft während des Vereinsjahres 1900/01. St. Gallen. 1902. p. 205—214. Mit 3 Tafeln.)

Genaue Darlegung des Baues und der Entwicklung des Pilzes, der in und um St. Gallen gemein ist. Auf den Tafeln wird die Sommer-, Herbst- und Wintervegetation (die Spermogonien, Pykniden und die Perithezien) des Pilzes schön dargestellt.

Matouschek (Reichenberg).

Hennings, P., Die an Baumstämmen und Holz auftretenden, teilweise parasitären heimischen Blätterschwämme. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIII. 1903. p. 198.)

Verf. geht auf die holzbewohnenden höheren Agaricinen näher ein und bespricht ihr Vorkommen und ihre Lebensgeschichte. Unter den angeführten Arten befinden sich viele, die bisher nur wenig als Holzzerstörer bekannt waren. Leider sind unsere Kenntnisse über diese Pilze bisher nur sehr dürftig, so daß die Art des Eindringens in den lebenden Baum und des Wachstums in ihm noch in Dunkel gehüllt ist. Durch die dankenswerte Zusammenstellung wird hoffentlich die Aufmerksamkeit der Phytopathologen mehr als bisher auf diese Formen gelenkt werden.

Lindau (Berlin).

H. M. M., Der *Fusicladium*-Schädling. (Wiener landwirtschaftliche Zeitung. 1903. p. 306.)

Verf. gibt eine Reihe von praktischen Ratschlägen für den Obstzüchter, damit derselbe dem Schädling mit Erfolg entgegen treten kann. Hierher gehören: Anpflanzen der Bäume an sonnigen Stellen, Lichtung der Krone der Bäume, nachdem eine dichte Baumkrone einen Brutherd für den Pilz bildet, achtsame Aufbewahrung der Früchte, wobei sehr stark befallene Früchte zu entfernen sind. Das Ausschweifeln der Keller, wenn der Pilz sich bereits auf den gelagerten Früchten ausbreitet, hat gar keinen Erfolg. Ob es immune Obstsorten gibt, bleibt noch dahingestellt, von autoritativer Seite wird jedoch versichert, daß die Apfelsorte „Transparentapfel von Concels“ die einzige sei, von welcher mit Bestimmtheit gesagt werden könne, daß sie frei von *Fusicladium* sei. Nach den Erfahrungen des Verf. wird der Pilz sowohl bei Äpfeln als auch Birnen in jenen Jahren zu einem ersten Schädiger der Ernte, in welchen Sonnenschein, trockene Winde und Wärme sich nicht in genügendem Maße einstellen, so daß die kühleren Lagen alsdann sehr leiden, und daß die Schorfflecken sich weit mehr bemerklich machen und die Früchte verunstalten, wenn sie sich an weißschalige, glattschalige, einfarbige, nicht rauhe Früchte ansetzen. Zur Bekämpfung des Pilzes hat sich das Be-

spritzen eines 1-proz. Gemisches von Kupfervitriol und Soda sehr bewährt. Das Bespritzen geschieht entweder mit einer Glashausspritze verbesserter Art, oder mit fahrbaren Spritzen. Hohe Bäume dürfen nicht anders als Büsche bespritzt werden und zwar in der Weise, daß die Flüssigkeit auch auf die Krone in Nebelform von oben und von der Seite gegeben werden kann. Stift (Wien).

Salmon, E. S., Gooseberry mildew in Europe. (Journal of the R. Horticultural Society. Vol. XXVII. S.-A. p. 1—6.)

Der amerikanische Stachelbeermeltau — *Sphaerotheca mors uvae* — ist (seit seinem ersten Auftreten in Europa 1900) an verschiedenen weiteren Stellen in Island und Rußland beobachtet worden. In jedem dieser Fälle hat die Krankheit einen ernsten Charakter angenommen und scheint sich mehr und mehr ausbreiten zu wollen.

Besonders interessant ist eine Beobachtung des Verf., aus welcher unmittelbar hervorgeht, daß dieser Meltau auch auf andere *Ribes*-Arten überzugehen vermag. Verf. infizierte gesunde Pflanzen von *R. Cynosbati* mit Konidien von *Sph. mors uvae* auf *R. grossularia*. Nach 10 Tagen traten Rasen von Konidienträgern auf. Diese Beobachtung ist sehr bemerkenswert, nachdem es bisher nur in sehr wenigen Fällen geglückt ist, mittels Konidien einen Mehltaupilz von einer Art auf eine andere zu übertragen.

Neger (Eisenach).

Eriksson, I., The Researches of Professor H. Marshall Ward on the brown roset on the bromes and the mycoplasma hypothesis. (Arkiv för botanik, utgivet af k. svenska Vetenskaps akademien. Bd. I. 1902. p. 139—146.)

Verf. wendet sich gegen die von M. Ward aus seinen Untersuchungen über den Braunrost der *Bromus*-Arten gezogenen Schlußfolgerung, die Erikssonsche Mykoplasmahypothese sei hinfällig. Eriksson weist nach, daß M. Ward seine Untersuchung an Material angestellt hat, an welchem von einer durch latente Keime mit langer Inkubationsdauer (2—10 Monate) erfolgenden Erkrankung nicht die Rede sein kann.

Neue Beweise für seine Mykoplasmahypothese bringt Verf. hier nicht. Neger (Eisenach).

Ritzema Bos, J., Der Brand der Narzissenblätter. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankh. 1903. Heft 2. p. 87—92.)

Die in den großen Narzissenzüchtereien Hollands schon seit längerer Zeit unter dem Namen „het vuur (das Feuer) der narzissen“ bekannte Blattkrankheit ist auf einen bisher nur auf den Blättern von *Iris germanica* beobachteten Pilz, *Heterosporium gracile* Sacc., nicht aber auf *Septoria Narcissi*, einen gleichfalls auf erkrankten Narzissenblättern vorgefundenen, aber ungefährlichen obligaten Parasiten, zurückzuführen. Die Krankheit äußert sich darin, daß die bis dahin gesunden grünen Blätter sich zunächst an den Rändern, dann bald auf der ganzen Spreite gelb färben, dürr werden und sich mit einem schwärzlichen, aus zahlreichen dunkelolivbraunen Konidienträgern bestehenden Anfluge überziehen. Ehe er auf den Blättern parasitischen Charakter

annimmt, scheint der Pilz auf den abgestorbenen Blütenteilen saprophytisch zu leben. Bei hoher Temperatur und relativ hohem Feuchtigkeitsgehalte der Luft im Mai und Juni ist der Krankheitsverlauf ein außerordentlich rascher; die Widerstandsfähigkeit der Narzissen wechselt aber nach Art und Varietät. Die unangenehmste Wirkung des Pilzangriffes besteht darin, daß infolge des vorzeitigen Absterbens des Laubes die Zwiebeln der befallenen Pflanzen klein und leicht bleiben und sich für den Handel nicht eignen. Bespritzungsversuche mit Bordelaiser Brühe lieferten sehr befriedigende Resultate, die bespritzten Beete blieben 4—5 Wochen länger grün als die nicht bespritzten. Auf einem der letzteren wogen die geernteten Zwiebeln 9 kg, auf dem angrenzenden gleichgroßen bespritzten Beete hingegen 14 kg. Endlich ergab die Untersuchung der Zwiebeln auf ihren Stärkegehalt, daß sich derselbe von Zwiebeln des bespritzten Beetes zu dem der Zwiebeln des unbespritzten Beetes wie 82 : 76 oder 100 : 88 verhielt. Beck (Tharandt).

Houard, C. Caractères morphologiques des Pleurocécidies caulinaires. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1338).

Verf. unterscheidet bei den stengelbürtigen Pleurocécidien vier verschiedene Gruppen.

1) Der Parasit lebt oberflächlich auf dem Stengel (*Asterolecanium massalongoianum* auf *Hedera helix*, Coccide auf *Potentilla hirta* var. *pedata*, Diptere auf *Brachypodium silvaticum*, Chermes abietis auf *Picea excelsa*). Der cecidogene Reiz wirkt namentlich auf Rinde und Verdickungsring, seltener auch auf das Mark. Die Symmetrieebene, die sich durch die Gallen legen läßt, ist bestimmt durch den Parasiten und die gegenüberliegende Stelle des Verdickungsringes; sie geht durch die Achse des Stengels.

2) Der Parasit lebt in der Rinde (*Eriophyes pini* auf *Pinus silvestris*); Rinde und Gewebe, auch der nächstliegende Teil des Verdickungsringes sind an der Gallenbildung beteiligt. Das neugebildete Gewebe bildet auch hier, wie bei 1), eine seitliche Vorwölbung; die Symmetrieverhältnisse wie in der ersten Gruppe.

3) Der Parasit lebt in den sekundären Leitbündelgeweben (*Contarinia tiliarum* auf *Tilia silvestris*, *Lasioptera rubi* auf *Rubus fruticosus* u. a.). An der Gallenbildung sind vor allem die Zellen des Verdickungsringes beteiligt; es entsteht reichliches sekundäres Gewebe. Symmetrieverhältnisse wie oben.

4) Der Parasit lebt im Mark (*Xestophanes potentillae* auf *Potentilla reptans*, *Aulax hieracii* auf *Hieracium umbellatum*, *Nanophyes telephii* auf *Sedum Telephium*) und regt die Zellen des Markes, auch die des Kambiums und der Rinde zu abnormalen Teilungen an. Die Symmetrieverhältnisse sind hier abweichend; die Galle ist radiär, ihre Achse fällt mit der des Stengels zusammen. Küster (Halle a. S.)

Houard, C. Recherches sur la nutrition des tissus dans les galles de tiges. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. 1903. p. 1489.)

In der Umgebung gallenerzeugender Parasiten befindet sich eine Nährschicht, die aus eiweißreichen, mit großen Kernen ausgestatteten Zellen besteht. Verf. untersucht an den stengelbürtigen Pleurocecidien die Beziehungen der abnormalen Gewebebildung und Stoffanhäufung zur Ausbildung der Leitbündel.

Ueber die vier vom Verf. unterschiedenen Gruppen vergl. das vorige Referat.

Bei der ersten Gruppe (Hemipteren, Cocciden) werden die dem Parasiten nächstgelegenen Leitbündel stark vergrößert; ihre Phloëmseite ist dem Parasiten zugewandt.

Bei der zweiten Gruppe (*Phytoptocecidium* auf *Pinus*) werden die hyperplastisch veränderten Teile der Rinde durch den Phloënteil der Leitbündel versorgt.

Bei der dritten Gruppe (*Contarinia* auf *Tilia* u. a.) liegt der Parasit mitten in unverholztem Xylem und reichlichem, zartwandigem sekundären Phloëm.

Bei der vierten Gruppe unterscheidet Verf. folgende verschiedene Modifikationen:

1) Wenn der Stengel inneres, markständiges Phloëm besitzt (*Lepidopterocecidien* auf *Epilobium*), so wird von diesem die Ernährung des abnormalen Gewebes übernommen.

2) Wenn die Zellen des Verdickungsringes eine nur schwache Teilungstätigkeit entwickeln (*Inflorescenzgallen* auf *Hystochoeris radicata* und *Atriplex halimus*), so strecken sich die an den Leitbündeln liegenden, peripherischen Markzellen (*cellules irrigatrices*) und besorgen die Ernährung des Parasiten.

3) Bei den Gallen von *Coleophora Stefania* auf *Atriplex halimus* und *Nanophyes telephii* auf *Sedum telephium* erfolgt reichliche Zellenteilung in den Markstrahlen; die Gefäßbündel werden unregelmäßig verschoben und voneinander getrennt.

4) Bei den Cynipidengallen (auf *Potentilla reptans*, *Hieracium* u. a.) entstehen neue kleine, leptozentrische Bündel (*faisceaux irrigateurs*), welche die Ernährung der Larve besorgen.

Küster (Halle a. S.)

Houard, C. Recherches anatomiques sur les galles de tiges (pleurocécidies). [Thèse.] (Bull. scientifique de la France et de la Belgique. T. XXXVIII. 1903. p. 140.)

Verf. schildert eine große Anzahl stengelbürtiger Pleurocecidien nach ihren anatomischen Charakteren und verwertet seine Einzelresultate zu einigen allgemeinen Folgerungen (vergl. auch die beiden vorhergehenden Referate). Zur Untersuchung kamen folgende Gallen: *Asterolecanium massalongoianum* auf *Hedera helix*, *Soccide* auf *Potentilla hirta* var. *pedata*, Diptere auf *Brachypodium silvaticum*, *Perrisia fraxiniae* auf *Fraxinus excelsior*, *Chermes abietis* auf *Picea excelsa*, *Eriophyes pini* auf *Pinus silvestris*, *Contarinia tiliarum* auf *Tilia silvestris*, *Harmandia petioli* auf *Populus tremula*, *Rhabdophaga salicis* auf *Salix caprea*, *Contarinia scoparii* auf *Sarothamnus scoparius*, *Plagiotrochus fusifex* auf *Rubus fruticosus*,

Ceutorrhynchus pleurostigma auf *Brassica oleracea*, *Aulax Latreillei* auf *Glechoma hederacea*, *Agromyza Kiefferi* auf *Cytisus albus*, *Agromyza pulicaria* auf *Sarothamnus scoparius*, *Andricus Sieboldi* auf *Quercus pedunculata*, *Ceutorrhynchus atomus* auf *Sisymbrium thalianum*, *Xestophanes potentillae* auf *Potentilla reptans*, *Aulax hieracii* auf *Hieracium umbellatum*, *Aulax hypochoeridis* auf *Hypochoeris radicata*, *Stefaniella Trinacriae* auf *Atriplex halimus*, *Lasioptera eryngii* auf *Eryngium campestre*, *L. carophila* auf *Torilis Anthriscus*, *Nanophyes telephii* auf *Sedum telephium*, *Coleophora Stefani* auf *Atriplex halimus*, *Apion scutellare* auf *Ulex europaeus*, *Cecidomyide* auf *Ephedra distachya*, *Mompha decorella* auf *Epilobium montanum* und *E. tetragonum*, *Gypsonoma aceriana* auf *Populus alba*, *Evetria resinella* auf *Pinus silvestris*.

Ueber die verschiedenen Typen, die Verf. je nach dem Aufenthaltsort des Gallentieres in der Wirtspflanze unterscheidet, vergleiche man die vorangehenden Referate.

Wir übergehen die Resultate, die Verf. bei der Beschreibung der einzelnen Formen zur Sprache bringt, und entnehmen seinen allgemeinen Schlußbetrachtungen folgendes.

Die Veränderungen der Pflanzengewebe durch die Gallentiere werden ausführlich geschildert; im wesentlichen bringen die Mitteilungen des Verf. nur neue Beispiele für die vom Ref. und anderen bereits beschriebenen pathologischen Vorgänge und Strukturbilder. Die Epidermis ist vorwiegend durch tangenciales Wachstum und entsprechende Teilung ihrer Zellen am Aufbau der Gallen beteiligt; bei radialem Wachstum kommt es bei den vom Verf. untersuchten Fällen nur zu Zellenwachstum. Teilung der Epidermis parallel zur Oberfläche ist, wie Verf. gezeigt hat, bei Gallen selten und wurde vom Verf. nur bei korkbildenden Zellen gefunden. Die Strukturänderungen der Epidermis bei Gallenbildung beziehen sich auf Vermehrung der Haare, geringe Vermehrung der Stomata, Bildung abnorm schwacher Cuticula und verdickter Außenwände, Verholzung der Epidermiswände bei Berührung mit dem Parasiten (*Brachypodium silvaticum*).

Die Rinde ist beteiligt durch radiales Wachstum (besonders lange Zellen, „longs poils“ bei *Contarinia* auf *Tilia* u. s. w., Bildung eines Rindenperiderms) und tangenciales Wachstum. Die damit verbundenen Änderungen in der Struktur des Gewebes kommen meist durch mangelhafte Ausbildung des mechanischen und assimilierenden Gewebes und des Interzellularraumsystems zu stande, seltener sind die Fälle, in welchen die Zellen der Sekretorgane proliferieren (*Eryngium*, *Pinus*). Besonders kräftige Entwicklung einzelner Gewebsformen bei den Gallen von *Pinus* (Harzgänge), *Tilia* und *Sedum* (Gerbstoff- und Schleimzellen), *Sarothamnus* und *Torilis* (Assimilationsgewebe), *Eryngium*, *Torilis* u. a. (Kollenchym). Bei den Gallen der *Chermes abietis* Sekretorgane an der Basis der deformierten Blätter.

Die hyperplastische Zunahme des Leitbündelgewebes

betrifft meist die sekundären Anteile und entweder alle beteiligten Gewebsformen oder nur einige (Tracheiden bei *Pinus* und *Picea*, Bastfasern bei *Tilia* u. s. w.). Die abnormalen Gewebe bestehen vielfach aus größeren Zellen als die normalen. — Außerdem wurde bei den meisten Gallen Vermehrung der Leitbündel konstatiert; die von dem Gallentier weit entfernten Gefäßbündel werden oft stark deformiert. — Durch Hyperplasie des Markstrahlengewebes kann der Gefäßbündelring fragmentiert werden (*Sedum* u. a.).

Am Pericykel werden die Parenchymzellen meist vermehrt, die Bastfasern werden oft in ihrer Entwicklung gehemmt, sie hypertrophieren vielfach, bleiben aber zartwandig und verholzen erst spät. — Das Periderm wird in vielen Gallen früher ausgebildet als unter normalen Verhältnissen oder entsteht besonders reichlich. In der Galle von *Epilobium montanum* im Periderm Zellteilungen in allen Richtungen.

Die Zellen des Markes proliferieren meist lebhaft. In der Dipterengalle von *Atriplex* radiale Streckung der peripherischen Markzellen. Bei *Potentilla*, *Ulex* u. a. Wundgewebe in der Umgebung der Larve.

Verf. gibt hiernach eine Schilderung der anatomischen Verhältnisse bei Inflorescenz- und Blattstielgallen.

Weiterhin stellt Verf. einige Betrachtungen an über den Umfang des Reizfeldes, das bei der Gallenbildung im Spiel ist. Der „rayon d'activité cécidogénétique“ ist um so größer, je größer das Gallentier oder je zahlreicher die Parasiten der nämlichen Galle sind; außerdem sind noch die spezifischen Qualitäten der Wirtspflanze maßgebend.

Betreffend die Symmetrieverhältnisse der Gallen und die Ernährung der Gallentiere ist auf die beiden vorangehenden Referate zu verweisen.

Schließlich wird der Einfluß des Parasiten auf Wachstum und Verzweigung der Wirtspflanze geschildert (Verbiegung der von *Chermes abietis* infizierten Zweige, Ausbleiben von Nebenästen, Hemmung des Sproßlängenwachstums). — Die Galle des *Andricus Sieboldii* deutet Verf. als endogen entstandenen Adventivtrieb der Wirtspflanze (*Quercus*).

Küster (Halle a. S.).

Beguinot, A., Studio anatomico di due cecidi del genere *Cuscuta*. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 17—52. Mit 3 Tafeln.)

Die besonders histologisch untersuchten Gallen werden von *Smicronyx Jungermanniae* auf *Cuscuta europaea* und von *S. coecus* auf *C. epithymum* verursacht und bestehen aus Stengelhypertrophien. Innerlich sind sie ein- oder mehrfächerig. Nach einer eingehenden Beschreibung der anatomischen Verhältnisse folgen allgemeine Betrachtungen über den vorliegenden Fall eines Tieres, das auf einem pflanzlichen Parasiten schmarotzt, während sonst parasitische Pflanzen im allgemeinen von tierischen oder pflanzlichen Parasiten sehr selten angegriffen werden. Verf. hat außerdem beobachtet, daß diese Gallen auf *Cuscuta* nicht selten

von nicht deformierten Zweigen derselben Pflanze umspinnen werden, welche Haustorien bis in die Gefäßbündelzone der Galle einsenden. Man hat also die auffallende Erscheinung einer sich selbst verzehrenden Pflanze vor sich. A. Trotter (Avellino).

Cecconi, G., Zoocecididi della Sardegna. (Marcellia. Vol. II. 1903. p. 24—28.)

Der in Sardinien und teilweise in Italien beobachteten Gallen sind 16. Zweidavon sind neu: Auf *Carlyna corymbosa* kugelige Blattgallen von *Tylenchus*; auf *Quercus suber* im Mesophyllgewebe eingegrabene Blattrandgalle von einem Cynipiden.

A. Trotter (Avellino).

Cecconi, G., Contribuzione alla cecidologia toscana. (Marcellia. Rivista internazionale di Cecidologia. Vol. I. 1903. p. 128—130, 141—145.)

Verzeichnis von 124 Cecidien, die Verf. oder andere Forscher in verschiedenen Orten von Toskana gefunden haben. Sämtliche Gallen sind ziemlich häufig.

A. Trotter (Avellino).

Jungner, J. R., Fritfliege und Stockälchen. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Jahrg. XIII. 1903. p. 45.)

Verf. beobachtete mehrfach, daß die Krankheitserscheinungen, welche die Fritfliege hervorruft, von den Symptomen der Stockkrankheit begleitet waren, und versuchte deshalb einen biologischen Zusammenhang zwischen den beiden Schädlingen zu ermitteln. Dies gelang durch eine Beobachtung auf einem Roggenschlag mit stehen gebliebenen Roggenstoppeln, welcher dicht an einen Hafer Schlag grenzte, auf dem sowohl Fritfliegen als auch Stockälchen massenhaft vorhanden waren. Auch an den nachgewachsenen Roggenpflanzen befanden sich die Aelchen in genügender Menge. Von sechs eingesammelten Fliegen bewegten sich zwei nicht sehr lebhaft und aus dem Hinterleib derselben traten bei der Zerquetschung durch das Deckgläschen des mikroskopischen Präparates Aelchen sowohl durch die Aftermündung wie durch die verletzte Wand des Hinterleibes heraus. Die Anzahl der Aelchen betrug bei einer Fliege 80—90 Stück, bei der anderen Fliege sogar bis 200 Stück. Die Aelchen bewegten sich anfangs langsam, wurden aber dann lebhafter und wiesen mit dem auf dem Getreide gleichzeitig lebenden Stockälchen keinen Unterschied auf.

Stift (Wien).

Bubák, Fr., Krankheiten der Zuckerrüben und des Getreides in Böhmen im Jahre 1902. (Zeitschrift für Zuckerindustrie in Böhmen. Jahrg. XXVIII. 1903. p. 80.)

Im allgemeinen wurden sehr wenig Schädlinge auf den erwähnten Feldfrüchten beobachtet, wie auch keine Krankheit in Böhmen epidemisch auftrat.

Zuckerrübe. Durch die ungünstige Frühjahrswitterung (Maifröste) wurde die Entwicklung des Wurzelbrandes sehr begünstigt, so daß manche Felder dreimal besät werden mußten. Durch die bisherigen Erfahrungen steht fest, daß der Wurzelbrand eine Krankheit ist, die hauptsächlich neben Bodeneinflüssen durch ungünstige Witterung zur Zeit der anfänglichen Entwicklung der

Zuckerrübe hervorgerufen wird. Weiter wurden die Larven der Rübenfliege (*Anthomyia conformis*) auf Rübenblättern, ferner der Wurzelkropf und der Pilz *Rhizoctonia violacea* beobachtet.

Getreide. Die Winterkornsaaten litten stellenweise im Jahre 1901 durch Zwergzikaden (*Jassus sexnotatus*) und war der durch dieselben verursachte Schaden recht empfindlich, nachdem die Herbstsaaten im Wachstum zurückblieben und Ende April 1902 nicht vorgeschrittener als die Frühjahrsaaten waren. Hafer wurde wie alljährlich an manchen Orten durch die Rübennematoden (*Heterodera Schachtii*) geschädigt und Drahtwürmer richteten an Gerste ziemlich großen Schaden an. Vereinzelt waren Weizenähren von den Larven der Halmfliege (*Chlorops taeniopus*) zerfressen.

Stift (Wien).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Istvánffy, Gy., A Botrytis, Monilia és Coniothyrium sporáinak életképességéről. [Ueber die Lebensfähigkeit der Botrytis-, Monilia- und Coniothyrium-Sporen.] (Mathematikai és természettudományi ésesatő. A. M. T. Akadémia. III. osztà. lyán ak folyóirata. XXI. k. 3. f. p. 222—235.)

Untersuchungen von höchster Bedeutung, welche sich mit der Lebensfähigkeit der pathogenen Organismen befassen. Autor faßt hier bezüglich einiger bis jetzt nicht angewendeten Bekämpfungsmittel die zur Vernichtung der Sporen erforderliche Quantität des Wirkungsstoffes mit der Frage des erforderlichen Zeitraumes zusammen und ergibt sich hier als Endresultat eine neue Auffassung der Bekämpfung, welche als auf das Zeitminimum reduzierte, unmittelbare Sporentötungsbekämpfung bezeichnet wird. Die Sporen der erwähnten Pilze wurden sowohl in Leitungs-, Niederschlags- und destilliertem Wasser, als auch in Most durchgeführten Keimungsversuchen unterzogen, und wurde dabei die Ergründung der gemeinsamen Rolle der Flüssigkeit und Temperatur bezweckt. Aus diesen Keimungsversuchen wurde erwiesen, daß 1) das Optimum für die Sporen des Monilia- und Botrytis-Pilzes bei 25° C, bei Coniothyrium diplodiella zwischen 25—30° C ist; 2) daß eine Wärme von 18—20° C sich dem Optimum am meisten nähert; 3) daß eine Temperatur von 5—12° C auf die Keimung nachteilig einwirkt; 4) daß eine Temperatur von 39—41° C die Keimung der Monilia- und Botrytis-Sporen selbst in Most nicht ermöglicht, während die braunen Sporen von Coniothyrium auch noch bei 38° C nach 10—12 Stunden keimen; 5) daß gegenüber einer geringeren Temperatur bezüglich der Keimung Monilia empfindlicher als Botrytis, am empfindlichsten aber Coniothyrium ist. Bezüglich der Wirkung des Wechsels großer Kälte und Wärme ging aus den Versuchen hervor, daß starker Frost, welchem langsame Auftauung folgt, in 6 Tagen 30 Proz. der Botrytis-Sporen und 70 Proz. der Monilia-Sporen vernichtet; demzufolge

es wahrscheinlich ist, daß nach trockenen, mit größeren Temperaturschwankungen verbundenen Wintern ein sichereres Auftreten der Botrytis-Krankheit zu erwarten ist, als die Verbreitung von Monilia, natürlich insofern dieselbe von der Zahl der überwinterten Sporen abhängt. Die Temperatur unter dem Gefrierpunkt schwächte die Keimungsenergie der Sporen.

Aus den Versuchen bezüglich des Alters und der Lebensfähigkeit der Sporen ging hervor, daß 1) 15 Proz. halbjähriger, trocken gehaltener Monilia-Sporen noch lebensfähig sind; 2) daß solche Sporen eine dem Gefrierpunkte entsprechende Kälte 6 Tage hindurch nicht mehr ertragen; 3) daß solche Sporen Temperaturschwankungen von -25°C und $+8^{\circ}\text{C}$ überhaupt nicht mehr ertragen, und 4) daß $1\frac{1}{2}$ -jährige, trocken gehalten Sporen schon zu Grunde gehen.

Die Sporentötungsversuche des Autors erwiesen, daß die häufig angewendeten Bekämpfungsmittel in gebräuchlicher Stärke die Sporen der erwähnten Pilze zu töten nicht im stande sind; Monilia-Sporen wurden selbst der Wirkung 6—8-proz. frischer, reiner, und 6—8-proz. karbonisierter Bordelaiser Brühe ausgesetzt, jedoch ohne Erfolg, da dieselben in Most keimten und nach 7 Tagen schon eine neue Sporenproduktion erfolgte. Die Versuche mit Calciumbisulfit wurden angestellt, um 1) die Wirkung des Mittels unter einheitlichen 24 Stunden zu bestimmen, 2) die kürzeste Zeitdauer anzugeben, unter welcher die Tötung der Sporen erfolgt, 3) den Zusammenhang zwischen der Sporenzahl und dem Perzent der Bekämpfungsflüssigkeit bezüglich der tödlichen Einwirkung festzustellen. Hier ergab sich, 1) daß 5-proz. Calciumbisulfitlösung unter 24 Stunden die Botrytis- und Monilia-Sporen tötet, sobald deren Zahl eine geringe ist; 2) daß dieselbe Lösung auch unter 30, ja 15 Minuten einen großen Teil der Sporen tötet, sobald die Zahl derselben ebenfalls eine geringe (40—60 in einem Tropfen) ist und dieselben daselbst gut verteilt sind; 3) daß eine 1,5-proz. Lösung die gewöhnliche Anzahl der Sporen (100 bis 150) unter 24 Stunden tötet; 4) daß diese Lösung diese gewöhnliche Anzahl, sobald die Sporen sehr gut verteilt sind, auch in 30, ja 15 Minuten tötet und 5) daß diese Lösung viele Sporen von Monilia (200—240 in einem Tropfen) ebenfalls unter dieser Zeitdauer töten kann, sobald diese sehr gut verteilt sind. Es ist aus diesen Versuchsergebnissen ersichtlich, daß das Verhalten von Sporen, welche aus einer Quelle stammen, und der Art nach auch einerlei sind, in gleichförmigen Flüssigkeiten und bei gleicher Zeitdauer dennoch ein verschiedenes ist, folglich der Grund dieser Tatsache nur in der Verteilung und Anzahl der Sporen liegen kann. Dieser wichtige Zusammenhang des Perzentsatzes der Lösung der Pilzart, der Sporenzahl und der physiologischen Wirkung wurde in der Literatur bis jetzt nicht genügend berücksichtigt.

Es war ferner wichtig, zu ergründen, welches Quantum des Bekämpfungsmittels zur Tötung der Spore notwendig ist. Die sehr eingehenden Versuche des Autors ergeben als Endresultat, daß bei Botrytis cinerea, wenig Sporen angenommen, zur Tötung

derselben das 9000fache Gewichtsquantum $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2$, des lebenden Gewichtes der Sporen notwendig ist; bei Annahme von vielen Sporen jedoch dasselbe auch auf das 1000-fache Gewichtsquantum der lebenden Sporen erhöht werden muß; bei *Monilia fructigena* ist zur Tötung der Sporen das 3000-fache Gewichtsquantum der lebenden Sporen erforderlich. Das Gewicht einer *Botrytis cinerea*-Spore wurde mit 0,00000088 mg, das einer *Monilia fructigena*-Spore mit 0,0000036 mg angenommen; es entfallen demnach auf ein Milligramm beiläufig 1 Million *Botrytis* und 300 000 *Monilia*-Sporen. Die Wirkung des Bekämpfungsmittels hängt hauptsächlich von dem Zeitabschnitte, durch welchen die Spore in der Flüssigkeit liegt, von der Anzahl der in dem Tropfen sich befindenden Sporen, von der Zeitdauer der Eintrocknung der Flüssigkeit und schließlich von einer neueren Auflösung (durch Tau oder Regen), also von einer fortgesetzten Wirkung ab, welche natürlich wieder von der chemischen Zusammensetzung der Bekämpfungsmittel abhängig ist. Da nun die bis jetzt gebräuchlichen Bekämpfungsmittel in flüssigem Zustande nicht 24 Stunden verbleiben können (sehr nasse Witterung ausgeschlossen) und ihre tötende Wirkung gegenüber der *Botrytis*-, *Monilia*- und *Coniothyrium*-Sporen unter dieser Zeit nicht zur Geltung kommen kann, sind nur zwei Wege der Bekämpfung offen, und sind somit entweder stärkere Bekämpfungsmittel anzuwenden oder die Bekämpfung zu wiederholen. Da jedoch diesen Bekämpfungsarten pflanzenphysiologische, technische und finanzielle Hindernisse entgegentreten, stellt der Autor, um die Bekämpfung doch zu ermöglichen, den Grundsatz der periodischen (fraktionierten) Bekämpfung auf, welche in der Vernichtung der aus den nicht getöteten Sporen hervortretenden Keimschläuche durch kurzperiodische Anwendung normalprozentiger (also schwächerer und somit billigerer) Bekämpfungsmittel bestehen soll. Diese Bekämpfung bezieht sich demnach auf unsere bekannten Bekämpfungsmittel, und wiewohl dieselbe zwar langsam vor sich geht und öfters wiederholt werden muß, kann dieselbe gegen die drei genannten Pilze immerhin angewendet werden. Die schwierige Ausführung der Bekämpfung führte jedoch zu der Frage, ob es nicht solche Mittel gebe, welche unter der kürzesten Zeitdauer die Sporen töten können, ohne Schaden an der Wirtspflanze anzurichten? Wäre es möglich, diese sporentötende Wirksamkeit, abiontische Energie, konzentriert auf das Minimum herabzusetzen? Diese Fragen führten den Autor zur Anwendung des Calciumbisulfit, Magnesiumbisulfit und Calcium-Magnesiumbisulfit, da bei diesem Mittel auch unter der geringsten Zeitdauer ihrer Anwesenheit die tötende Wirkung der abiontischen Energie durch schnellere Diffusion sich äußert und somit die Erzeugung der ersten, unmittelbar tödlichen Einwirkung ermöglicht. Von einer eventuellen Steigerung dieser Einwirkung will der Autor nach weiteren im Freien ausgeführten und auch andere Pilzformen umfassenden Versuchen berichten.

Karl Pósch (Grinád. Ungarn).

Beseler, W., Versuche mit Kupfervitriolspritzungen auf Cunrauer Moordämmen zu Pferdebohnen. (Deutsche Landwirtsch. Presse. 1903. p. 669.)

Versuchspflanze war die Pferdebohne, deren weiterer Anbau auf den Cunrauer Moorkulturen durch die verheerende Wirkung von (Mehltau?) Befallpilzen in Frage gestellt ist. Nachdem im Herbst 1902 die Gerstenstoppel flach umgepflügt war, wurden bestimmte Parzellen mit einer Lösung, bestehend aus 3 Pfd. Kupfervitriol in 100 l Wasser aufgelöst, bespritzt; ein Teil der Parzellen blieb unbespritzt. Im Frühjahr 1903 wurden Pferdebohnen angesät und um die Wirkung des Spritzens zu verschiedenen Zeiten beobachten zu können, das Feld in 3 Absätzen (am 8., 13. und 29. Mai) mittels einer fahrbaren Spritze von C. Platz in Ludwigshafen, die unter einem Druck von 3—4 Atmosphären arbeitet, bespritzt. Um einer eventuellen Schädigung der Blätter durch das Kupfervitriol vorzubeugen, wurden dem Präparat gleiche Gewichtsteile Maueralkal zugesetzt. Die Wirkung des Kupfervitriols war sowohl bei der Herbst- wie bei der Frühlingsbespritzung außerordentlich auffallend. Die bespritzten Bohnen waren über $\frac{1}{2}$ m höher als die nicht bespritzten, Blätter und Schotenansatz üppig und durchaus gesund, während die Bohnen auf den nicht bespritzten Teilen des Feldes überall schwächer waren und kränkelten. Aus den Versuchen geht hervor: 1) Die Bohnenernte wurde durch Bespritzen mit Kupfervitriol mit Sicherheit gesteigert und der Wert der Mehrernte betrug rund 70 Mark pro Morgen. 2) Die Steigerung wurde durch rechtzeitige Vertilgung der Befallpilze bewirkt. 3) Die Bekämpfung hat unbedingt vor dem Kränkeln der Pflanzen zu erfolgen. 4) Die Besprengung im Herbst auf die Ackererde oder im Frühjahr auf die lebenden Pflanzen ist für die absoluten Mehrernten gleichgültig, während die relative Mehrernte bei der Besprengung der lebenden Pflanzen eine höhere (über 50 Proz.) war. 5) Mehr als 15 Pfund Kupfervitriol pro Morgen haben keinen höheren Ertrag gebracht und dürften 10—11 Pfund genügen. 6) Ein Zusatz von gelöschtem Kalk ist ein sicherer Schutz gegen das Verbrennen der Blätter durch das Kupfervitriol. Stift (Wien).

Stewart, F. C. and Harding, H. A., Combating the black rot of cabbage by the removal of affected leaves. (New York Agricultural Experiment Station Geneva. N. Y. 1903. No. 232.)

Die Schwarzfäule tritt in schwarzen Streifen auf dem holzigen Stammteile und in den Blattstielen sowohl auf Kohl als auch auf Blumenkohl in New-York auf. Manche Forscher empfahlen die Pfückmethode, welche darin besteht, daß alle befallenen Blätter entfernt werden. Verff. aber fanden diese Methode wertlos, da sie nicht nur die Krankheit nicht beseitigt, sondern sogar den Ertrag um 42,8 Proz. bei einer Pflanze vermindert. Für die Wertlosigkeit der Methode stellen die Verff. noch folgende Gründe auf: 1) Die Infektion erfolgt durch die Blätter und Wurzeln; 2) sie kann zwischen dem Stamme und der Blattbasis eintreten und erreicht so den Stamm oft ganz unbemerkt. 3) Tritt

die Krankheit irgendwo auf, so sind die Keime in Unmenge vorhanden. — Da die Art und Weise der Infektion und Ausbreitung derselben noch nicht klargestellt ist, so ist auch die Entdeckung einer erfolgreichen Bekämpfung dieses Pilzes der Zukunft vorbehalten. Verff. setzen in dieser Richtung ihre Studien fort.

Matouschek (Reichenberg).

Spiegel von und zu Peckelsheim, Freiherr, Hühnereintrieb
gegen Kiefernspanner in der Oberförsterei Kielau.
(Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jg. XXXV. 1903. p. 146—161.
2 Fig.)

Der Versuch, die Puppen des Kiefernspanners durch ständig im Walde gehaltene Haushühner vertilgen zu lassen, wurde bereits Ende Septembar (1902) abgebrochen, weil „das drohende Gespenst der Ueberhandnahme des Insekts inzwischen verblichen war“. Da die Durchführung des Versuches unter genauer Kostenaufstellung, gleichmäßiger Berücksichtigung des Für und Wider und Beigabe vieler praktischer Winke berichtet wird, so ist die Abhandlung für anderweites Vorgehen wohl zu beachten. Günstige Umstände für das Experiment bot die Nähe der Gehöfte des Revierverwalters und des Forstaufsehers, welche die Ueberwachung erleichterte, ungünstig auf die Verminderung der Kosten wirkte die Zusammensetzung des Hühnerbestandes aus meist alten, legeuntüchtigen Tieren und der Ausbruch einer Seuche, welcher ein Teil der erzielten Kücken erlag. Jedenfalls glaubt Verf. zu folgenden Schlußfolgerungen berechtigt zu sein. Die in Kielau gemachten Erfahrungen bestätigen die namentlich in der Provinz Sachsen gemachten Beobachtungen, daß Haushühner in der Vertilgung von Spannerraupeu Bedeutendes zu leisten vermögen. Ferner wirkt die Puppennahrung auf Körperzustand und Legetätigkeit jener günstig ein, wenn auch pflanzliche Beikost in noch auszubehender Bemessung nicht fehlen darf. Die längere Unterbringung und das Zusammenhalten größerer Hühnermengen im Walde sind wohl ausführbar, die Kosten dafür nur solche, daß die ganze Maßregel deswegen nicht hinter andere Vertilgungsmittel zurückzutreten braucht. Die Anwendung wird kaum beim Vorhandensein großer Spannermengen auf ausgedehnten Flächen nützen, wohl aber einem vernichtenden Spannerfraße vorbeugen können, wenn bei anfänglich noch begrenzten kleineren Fraßherden der Kampf mit Hülfe der Hühner aufgenommen wird, was tunlichst frühzeitig, im Spätherbste, zu geschehen hat.

Jacobi (Tharandt).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Lafar, Franz, Technische Mykologie. Ein Handbuch für Gärungsphysiologie.
Mit Quellenverzeichnis und Sachregister. Jena (Fischer) 1903. 8°. 138 p.
2,80 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

- Brodmann, K.**, Zwei neue Apparate zur Paraffintechnik. (Journ. f. Psychol. u. Neurol. Bd. II. 1903. Heft 5. p. 206—210. 2 Fig.)
- Picker, M.**, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im Wasser durch Fällung mit Eisensulfat. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 1. p. 7—9.)
- Hars, C. O.**, Paraffinöl als Ersatz für Kanadabalsam zu mikroskopischen Dauerpräparaten. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1903. Heft 2. p. 187—188.)
- Heidenhain, Martin**, Ueber die zweckmäßige Verwendung des Congo und anderer Amidoazokörper, sowie über neue Neutralfarben. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1903. Heft 2. p. 179—186.)
- Hoffmann, Walther**, Deckglastransporteur für Schnittfärbung. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1903. Heft 2. p. 171—172.)
- Marktanner-Turneretscher, G.**, Wichtige Fortschritte auf dem Gebiete der Mikrophotographie und des Projektionswesens. (Eders Jahrb. f. Photogr. u. Reproduktionstechnik. Bd. XVII. 1903. p. 161.)
- Miller, C. H.**, On Embedding in celloidin. (Journ. applied Microsc. Vol. IV. 1903. N. 4. p. 2253.)
- Resnik, B.**, Technik Mikroskopická. Brünn. 168 p. 8°. 2 Kronen.
- Richter, Edward**, Diapositivwechsler der optischen Werkstatt von Carl Zeiss in Jena. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1903. Heft 2. p. 132—137.)
- Schöbel, E.**, Einfacher Auswaschapparat. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XX. 1903. Heft 2. p. 168—170.)
- Traité de Radiologie médicale. Publié sous la direction de Ch. Bouchard. Paris (Steinheil) 1903. 1082 p. 7 Taf. u. 356 Fig. 27 M.

Systematik, Morphologie und Biologie.

- Berry, H. L.**, Bacterium pyogenes sanguinarium. (Journ. of med. research Boston. Vol. X. 1903. N. 3. p. 402—406. 1 Taf.)
- Beijerinck, M. W. en van Delden, A.**, Een kleurloze bacterie waarvan het koolstof voedsel uit de lucht komte. (Versl. Gew. Vergad. Wis- en Natuurk. Afd. 11. 1903. p. 450—466.)
- Bienstock**, Anaérobies et symbiose. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 12. p. 850—856.)
- Biffi, U.**, Un metodo nuovo per coltivare estemporaneamente gli anaerobi obbligati. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIII. 1903. Fasc. 4. p. 680—688. 1 Fig.)
- Chiarisla, Luigi**, Sulla diagnosi differenziale di vari bacilli radiculi in base ai caratteri morfologici e culturali. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIII. 1903. Fasc. 4. p. 663—679.)
- Crawley, Howard**, Nosema geophili n. sp. a Myxosporidian parasite of geophilus. (Proc. of the Acad. of nat. sc. Philadelphia. Vol. IV. 1903. p. 337—338. 4 Fig.)
- v. Freudenreich, Ed.**, Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaëroben-Arten bei Hartkäsen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 10/11. p. 327—330.)
- Grijns, G.**, Die Ascusform des Aspergillus fumigatus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 10/11. p. 330—332. 6 Fig.)
- Hanna, W.**, Trypanosoma in Birds of India. (Quart. Journ. of microsc. sc. N. Ser. (Vol. XLVII. P. 3) 1903. N. 187. p. 433—438.)
- Hofferan, Mary**, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 10/11. p. 311—317.)
- Hennings, P.**, Ueber holzzerstörende Schwämme, welche in Gebäuden auftreten. (Baumaterialienkunde. Stuttgart. Bd. VIII. 1903. N. 14. p. 195—198.)
- , Ein stark phosphoreszierender javanischer Agaricus (Mycena illuminans P. Henn. n. sp.) (Hedwigia Bd. XLII. 1903. Heft 6. p. 309—310.)
- van Itersson, G., jr.**, Ophoopin geproeven met denitrificerende Bacteriën. (Versl. Gew. Vergad. Wis- en Natuurk. Afd. 11. 1903. p. 135—150. 1 Taf.)
- Loew, O. und Kozai, Y.**, Zur Physiologie des Bacillus pyocyaneus 2. (Bull. Coll. Agric. Tokyo. Imp. Univ. Bd. V. 1903. N. 4. p. 449—453.)
- Löwenstein, E.**, Ueber Katalasen in Bakterienfiltraten. (Wiener klin. Wchnschr. Jg. XVI. 1903. N. 50. p. 1393—1394.)
- Low, C.**, A new filaria in a monkey. (Journ. of trop. med. Vol. VII. 1904. N. 1. p. 2—3.)

- Magnus, P.**, Ein neues Helminthosporium. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 6. p. 222—225. 1 Taf.)
- , Bemerkungen zur Benennung einiger Uredineen in P. und H. Sydows Monographia Uredinearum. (Hedwigia. Bd. XLII. 1903. Heft 6. p. 305—306.)
- Mayer, Martin**, Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen aus Bakterien. (Dtsche med. Wehnschr. Jg. XXX. 1904. N. 2. p. 56—57.)
- Mesger, P.**, Untersuchungen über die Entwicklung der Flechtenfrucht. (Beitr. z. wiss. Bot. Abt. I. Bd. V. 1903. p. 108—144. 7 Fig.)
- Omellianski, W.**, Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 10/11. p. 317—327. 1 Taf.)
- Pinoy, E.**, Les champignons pathogènes. Leur classification d'après les caractères botaniques. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année I. 1903. N. 20. p. 761—774. 12 Fig.)
- Samkow, S.**, Zur Physiologie des Bacillus prodigiosus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 10/11. p. 305—311. 1 Fig.)
- Smith, Worthington G.**, New British Basidiomycetes. (Journ. of bot. British a. foreign. Vol. XLI. 1903. N. 492. p. 385—387. 1 Fig.)
- Wright, J. H.**, Protozoa in a case of tropical ulcer (Delhi sore). (Journ. of med. research Boston. Vol. X. 1903. N. 3. p. 472—482. 4 Taf.)
- Zega, A.**, Eine chromogene Kugelbakterie. (Chemiker-Ztg. Jg. XXVII. 1903. N. 66. p. 811.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

- Celli, A., Casagrandi, O., Bajardi, A.**, Studio batteriologico dell' acqua Marcia dalle sorgenti alla sua distribuzione. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIII. 1903. Fasc. 4. p. 729—850. M. Fig.)
- Duclaux, E.**, Études d'hydrographie souterraine. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XVII. 1903. N. 12. p. 857—861.)
- Fabri, Elis**, Ricerche sulla corruzione delle acque dei laghi. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIII. 1903. Fasc. 4. p. 708—727. 5 Fig.)
- Pungier**, L'eau distillée, comme eau de boisson à bord. (Arch. de méd. navale. 1903. N. 12. p. 424—428.)

Fleisch.

- Dettmann, A.**, Die Reorganisation der Trichinenschau unter besonderer Berücksichtigung der gesetzlichen Vorschriften und Verordnungen. Pritzwalk (Lemke) 1903. 8°. 36 p. 1 M.

Milch, Molkerei.

- von Behring, E.**, Säuglingsmilch und Säuglingssterblichkeit. (Therapie d. Gegenwart. Jg. XLV. 1904. Heft 1. p. 1—10.)
- Marpmann**, Zur Milchkonservierung und über Milchrahm mit Tuberkelbacillen. (Milch-Ztg. Leipzig. Jg. XXXIII. 1903. N. 1. p. 7—8.)
- Park, W. M. H. and Holt, L. Emmett**, Report upon the results with different kinds of pure and impure milk in infant feeding in tenement houses and institutions of New York city; a clinical and bacteriological study. (Med. News. Vol. LXXXIII. 1903. N. 23. p. 1066—1078.)
- Seiffert, Max**, Die Versorgung der großen Städte mit Kindermilch. 1. Teil: Die Notwendigkeit einer Umgestaltung der Kindermilcherzeugung. Leipzig (Weigel) 1904. 8°. 278 p. 4 Kurventafeln. 6 M.

Wein, Weinbereitung.

- Delle, Éd.**, La coloration artificielle des vins. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 1. p. 1—2.)
- Desmoulins, A. M.**, Les pins surcollés. (Le moniteur vinicole. Année XLVIII. 1903. N. 101. p. 404.)
- Manceau, Emile**, Caractères chimiques des vins mildewés. (Le moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 2. p. 6.)
- Wortmann**, Das Bitterwerden der Rotweine und Verhütung resp. Heilung dieser Krankheit. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XV. 1903. N. 12. p. 135—137. [Referat].)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Fraenkel, C., Zur Frage der Beseitigung von Abwässern aus Lungenheilstätten. (Tuberculosis. Vol. II. 1903. N. 12. p. 555—564.)

Herman, Étude critique sur les services publics de désinfection en Belgique. (Bull. de l'Acad. R. de méd. de Belgique. Sér. 4. T. XVII. 1903. N. 10. p. 311—335.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Abbey, G., Sleeping disease of tomato. (The Garden. Vol. LXIII. 1903. N. 1643. p. 337—338.)

Baudisch, Fr., Notizen über Septoria parasitica R. H., Fusoma Poni R. H. und Alescheria Laricis R. H. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXIX. 1903. Heft 11. p. 461—464.)

Bouygues, H., Sur la Nielle des feuilles de tabac. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 26. p. 1303—1305.)

Butler, E. J., Potato diseases of India. (Agricult. Ledger. 1903. 5 Fig.)

Carruthers, J. B., Root disease in tea (*Rosellinia radiciperda* Mass.) (Circ. R. Bot. Gard. Ceylon. Ser. 1. 1903. N. 6. p. 111—122.)

—, Cacao canker in Ceylon. (Circ. R. Bot. Gard. Ceylon. Ser. 1. 1903. N. 23. p. 275.)

Costantin, J. et Galland, M., Sur la „mancha“ maladie du Cacaoyer. (Rev. Cult. Colon. Vol. XIII. 1903. p. 33—37.)

Delacroix, G., De la filiosité des pommes de terre. (Compt. rend. Acad. d. sc. T. CXXXVII. 1903. N. 23. p. 1006—1007.)

—, La brunissure de la pomme de terre. (Bull. mens. off. renseign. Agric. Paris. Vol. II. 1903. p. 29—31.)

—, Nouvelle maladie bactérienne de la pomme de terre. (Moniteur d'horticult. 1903. p. 46.)

Dern, I., 2- oder 3-prozentige Kupferkalkmischung zum Spritzen der Reben. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. Jg. XV. 1903. N. 12. p. 191—192.)

Harshberger, John W., The form and structure of the Mycodomatia of *Myrica cerifera* L. (Proc. of the Acad. of nat. hist. of Philadelphia. Vol. IV. 1903. p. 352—361.)

Hellwig, Th., Zusammenstellung von Zooecidien aus dem Kreise Grünberg, Schles. (Forts.) (Allg. Ztschr. f. Syst., Florist., Pflanzengeogr. 1903. N. 7/8. p. 129—130.)

Lang, Eugen, Beiträge zur Anatomie der Krustenflechten. (Beitr. z. wiss. Bot. Abt. I. Bd. V. 1903. p. 162—188.)

Malkoff, Konstantin, Eine Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale* in Bulgarien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1903. N. 10/11. p. 333—336. 4 Fig.)

Mokrzecki, S. A., Ueber die innere Therapie der Pflanzen. [Vorl. Mitt.] (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 5. p. 257—265. 6 Fig.)

Noack, F., Phytopathologische Notizen aus Belgien und Holland. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIII. 1903. Heft 5. p. 267—268.)

Pepper vine disease in the Wynaad. (Trop. Agriculturist Colombo. Vol. XXII. 1903. N. 12. p. 306—307.)

Perrand, J., Le clochage de la vigne. (Rev. viticult. Vol. XX. 1903. p. 49—50.)

Prunet, A., Traitement du black rot. (Rev. viticult. Vol. XX. 1903. p. 16—19; 39—42.)

Inhalt.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Mikrobiologische Gesellschaft zu Petersburg.

Omelianski, W. L., Ueber die histologischen und chemischen Veränderungen in den Flachstengeln unter dem Einfluß der Bakterien der Pektin- und Cellulosegärung, p. 561.

Referate.

Aderhold, R., II. Beitrag zur Pilzflora Proskaus, p. 571.

—, Ueber eine bisher nicht beobachtete Krankheit der Schwarzwurzeln, p. 576.

Ansai, Bakteriologische Untersuchung über Shoyu, p. 563.

Bandi, W., Beiträge zur Biologie der Uredineen [*Phragmidium subcorti-*

- cium (Schränk) Winter, *Puccinia caricis montanae* Ed. Fischer], p. 567.
- Beck, R.**, Beiträge zur Morphologie und Biologie der forstlich wichtigen *Nectria*-Arten, insbesondere der *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr., p. 565.
- Beguinet, A.**, Studio anatomico di due cecidi del genere *Cuscuta*, p. 582.
- Bubák, Fr.**, Krankheiten der Zuckerrüben und des Getreides in Böhmen im Jahre 1902, p. 583.
- Cavara, F.**, *Riccoa aetnensis* Cav., nouveau genre de champignons du Mont Etna, p. 569.
- Cecconi, G.**, Zooceci della Sardegna, p. 583.
- , Contribuzione alla cecidologia toscana, p. 583.
- Demoussy, E.**, Sur la végétation dans l'atmosphère riche en acide carbonique, p. 562.
- Dreyer, A.**, Mitteilung über den Rußtau: *Capnodium salicinum* Mont, p. 577.
- Eriksson, I.**, The researches of Professor H. Marshall Ward on the brown rust on the bromes and the mycoplasma hypothesis, p. 578.
- Ewert, Das** Auftreten von *Cronartium ribicolum* auf verschiedenen *Ribes*-Arten in den Anlagen des kgl. pomolog. Instituts zu Proskau, p. 571.
- Falvre, Etude** bactériologique sur les eaux sulfureuses, p. 562.
- Farneti, R.**, Intorno allo sviluppo ed al polimorfismo di un nuovo micromicete parassita, p. 566.
- Happich, Ueber** Milchbakterien, p. 564.
- Hennings, P.**, Die an Baumstämmen und Holz auftretenden, teilweise parasitären, heimischen Blätter-schwämme, p. 577.
- Hinze, P.**, *Thiophysa volutans*, ein neues Schwefelbakterium, p. 563.
- Houard, C.**, Caractères morphologiques des *Pleurocécidies* caulinaires, p. 579.
- , Recherches sur la nutrition des tissus dans les galles de tiges, p. 579.
- , Recherches anatomiques sur les galles de tiges (*pleurocécidies*), p. 580.
- H. M. M.**, Der *Fusicladium*-Schädling, p. 577.
- v. Istvánffy, Julius**, Ueber neue Weinrebenschädlinge, p. 575.
- Jungner, J. R.**, Fritfliege und Stockälchen, p. 583.
- Lindau, G.**, Hilfsbuch für das Sammeln der Ascomyceten mit Berücksichtigung der Nährpflanzen Deutschlands, Oesterreich-Ungarns, Belgiens, der Schweiz und der Niederlande, p. 565.
- Long, William H. jr.**, The *Ravenelias* of the United States and Mexico, p. 572.
- Mayor, Eug.**, Contribution à l'étude des *Urédinées* de la Suisse, p. 571.
- Noelli, A.**, *Aecidium biscutellae* n. sp., p. 570.
- Preuss, Paul**, Ueber Pflanzenschädlinge in Kamerun, p. 573.
- Prunet, Sur** une maladie des rameaux du figuier, p. 576.
- Blitzema Bos, J.**, Der Brand der Narzissenblätter, p. 578.
- Salmon, E. S.**, Gooseberry mildew in Europe, p. 578.
- Thiry, G.**, De la signification des bacilles violets dans les eaux d'alimentation, p. 562.
- Vogolino, P.**, Sulla batteriosi delle lattughe, p. 576.
- Ward, Marshall**, Further observations on the brown rust of the bromes, *Puccinia dispersa* (Erikss.), and its adaptive parasitism, p. 569.
- Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.**
- Beseler, W.**, Versuche mit Kupfervitriolspritzungen auf Cunrauer Moordämmen zu Pferdebohnen, p. 587.
- Istvánffy, Gy.**, A *Botrytis*, *Monilia* és *Coniothyrium* sporáinak életképességéről. (Ueber die Lebensfähigkeit der *Botrytis*-, *Monilia*- und *Coniothyrium*-Sporen), p. 584.
- Spiegel von und zu Peckelsheim. Freiherr**, Hühnereintrieb gegen Kiefernspanner in der Oberförsterei Kielau, p. 588.
- Stewart, F. C. and Harding, H. A.**, Combating the black rot of cabbage by the removal of affected leaves, p. 587.
- Neue Litteratur**, p. 588.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 L

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XI. Band.

Jena, den 15. März 1904.

No. 20/22.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 90 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Ueber die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit
Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können.**

Von **M. W. Beijerinck**, Delft.

Bekanntlich hat Herr Winogradsky angegeben¹⁾, daß die von ihm entdeckten Mikroben der Nitrifikation die Energie, welche dieselben durch die Oxydation der Nitrite in Freiheit setzen, verwenden für die Zerlegung der Kohlensäure, und daß

1) *Annal. de l'Institut Pasteur*. T. VI. 1891. p. 270 und 462.

dieselben aus letzterem Körper als Kohlenstoffquelle ihre organische Leibessubstanz aufbauen sollten. Indessen habe ich mich von der Richtigkeit dieser Ansicht nicht überzeugen können, stieß dagegen bei der Nachprüfung seiner Angaben auf einen, eben für die in Nitratabbildung begriffenen Kulturflüssigkeiten charakteristischen Mikroben (*Bacillus oligocarbophilus*), welcher sich mit den organischen Kohlenstoffverbindungen der Laboratoriumsluft ernährt¹⁾.

Die Anhäufung von organischem Stoff, welchen man bei der Nitrifikation dann und wann auch nach meiner Erfahrung beobachtet, muß deshalb auf diesen Mikroben, dessen Atmung auf die gewöhnliche Weise Energie erzeugt, zurückgeführt werden. Auch bemerkte ich in meinem Grünhause, wo die Luft viel reiner ist als im Laboratorium, bei gleich starker Nitrifikation gar kein oder erst viel späteres Wachstum von *B. oligocarbophilus*, welcher von Anfang an den Kulturen zugesetzt war.

Im vorigen Jahre ist Herr Natanssohn²⁾ auf die Frage zurückgekommen, und hat gezeigt, daß im Meere Bakterien vorkommen, welche durch Oxydation von Schwefelwasserstoff oder von Thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) imstande sind, Kohlensäure zu reduzieren und daraus ihre organische Körpersubstanz aufzubauen.

Ich kann die Richtigkeit seiner Versuche durchaus bestätigen und durch eigene Erfahrungen ausdehnen.

Zunächst war es mir bekannt, daß die Erscheinung sich noch leichter nachweisen läßt für Süßwasserformen als für diejenigen des Meeres, welche letztere jedoch auch an der holländischen Küste ganz allgemein sind. Weiter ist mir der Prozeß noch unter einer ganz anderen Form vorgekommen, nämlich als Denitrifikationsvorgang mit freiem Schwefel als Energiequelle. Schließlich erkannte ich die gleiche Erscheinung bei der Spaltung der Rhodanate durch Bakterien, besonders beim Ammoniumrhodanat (CNS.NH_4), welches ebenfalls mit Bildung freien Schwefels stattfindet.

Meine Beobachtungen habe ich zum ersten Male vorgetragen am 16. April 1903 auf der 9. Versammlung der niederländischen Naturforscher und Aerzte zu Delft³⁾.

Ich will zunächst meine Versuche beschreiben, welche denjenigen von Herrn Natanssohn ganz parallel sind.

1. Die Reduktion der Kohlensäure mit Schwefelwasserstoff, Thiosulfat oder Tetrathionat als Energiequelle.

Man fülle einen gewöhnlichen oder einen Erlenmeyer-Kolben mit einer nicht zu dicken Schicht der folgenden Nährlösung, welche keine andere Kohlenstoffquelle, wie Natrium-

1) Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. II. Bd. X. 1903. p. 33.

2) Ueber eine neue Gruppe von Schwefelbakterien. (Mitt. der zool. Station zu Neapel. Bd. XV. 1903. Heft 4. p. 655.)

3) Phénomènes de réduction produits par les microbes. (Archives Néerlandaises. Sér. II. T. IX. 1904. p. 131.)

bikarbonat und als Energiequelle Natriumthiosulfat, $\text{Na}^2\text{S}^2\text{O}^3$, enthält:

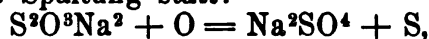
H^2O	100
$\text{Na}^2\text{S}^2\text{O}^5\text{H}_2\text{O}$	0,5
NaHCO^3	0,1
K^2HPO^4	0,02
NH^4Cl	0,01
MgCl^2	0,01

Kochen oder Sterilisieren ist überflüssig¹⁾.

Es wird infiziert mit einer reichlichen Quantität Graben- oder Kanalwasser oder mit einer Spur Grabenschlamm²⁾, und es wird kultiviert im Thermostaten bei 28° C bis 30° C. Ob im Licht oder Dunkeln, ist gleichgültig. Nach 2 oder 3 Tagen bedeckt sich die Oberfläche der Kulturflüssigkeit mit einer Schicht freien Schwefels, welche dicht mit Bakterien erfüllt ist.

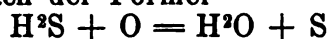
Man impft eine Spur dieser Haut über in eine ganz ähnliche Lösung, wobei also jede Verunreinigung mit organischen Stoffen aus dem Wasser oder dem Schlamm ausgeschlossen ist, und sieht dann sicher nach 24 Stunden eine noch kräftigere Hautbildung wie bei der Rohimpfung.

Eben wie beim Versuche von Herrn Natanssohn findet hierbei die folgende Spaltung statt:



welcher Prozeß exothermisch ist und also als Energiequelle fungieren kann. Daß diese Energie tatsächlich für die Kohlensäurereduktion des Natriumbikarbonates, d. h. also für die Bildung der organischen Stoffe der Bakterienkörper, verwendet wird, ist unzweifelhaft. Diese wichtige Tatsache ergibt sich daraus, daß der Versuch desto besser gelingt, je sorgfältiger man organische Kohlenstoffquellen fernhält³⁾.

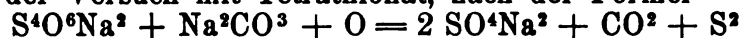
In diesem Versuche läßt sich das Thiosulfat durch Schwefelwasserstoff oder besser durch CaS ersetzen, wovon wegen der stark alkalischen Bakterien nicht mehr wie ca. 0,1 Proz. zu verwenden ist, und wobei nach Abspaltung von H^2S durch Kohlensäure der Oxydationsvorgang nach der Formel



stattfindet.

Weil H^2S jedoch schon an der Luft oxydiert, ist letztere Reaktion weniger elegant, in der Natur jedoch sicher viel wichtiger und allgemeiner, weil das Thiosulfat in den Gewässern viel seltener ist.

Etwas schwieriger, jedoch auch sehr schön und überzeugend, gelingt der Versuch mit Tetrathionat, nach der Formel



1) Oder schädlich, insoweit das Bikarbonat sich spalten kann.

2) Der Grabenschlamm in Holland, sowie der Meeresschlamm an unserer Küste enthält überall FeS oder H^2S , entstanden durch Sulfatreduktion durch *Microspira desulfuricans* im Süßwasser, durch *M. aestuarii* im Meere.

3) Ganz anders also, wie im früher beschriebenen Falle der Nitrifikation, wobei *Bacillus oligocarpophilus* sich mit den organischen Verbindungen, welche in der atmosphärischen Luft vorkommen, ernährt.

wobei, wie man sieht, eine Zugabe von Natriumkarbonat äquivalent dem verwendeten Tetrathionat notwendig ist, um die in diesem Falle gebildete freie Schwefelsäure zu binden ¹⁾).

Das Dithionat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, wird durch unsere Bakterien nicht gespalten. Das Ammonsalz als Stickstoffquelle kann durch Nitrat ersetzt werden. Andere Kohlenstoffverbindungen, wie Kohlensäure, um das Kohlenstoffbedürfnis zu befriedigen, konnten nicht aufgefunden werden. Sicher untauglich dafür sind Ureum, Formiate, Oxalate sowie die komplizierteren organischen Stoffe.

Bei allen diesen Versuchen kann das 0,1 Proz. Natriumbikarbonat durch 0,05 Proz. Na_2CO_3 ersetzt werden, jedoch ist dann das Resultat weniger sicher. Offenbar ist die leichte Abspaltung der freien Kohlensäure dem Stoffwechsel unserer Bakterie günstig.

Es ist wichtig, die genannten Mengenverhältnisse genau zu beachten, besonders ein zuviel an Karbonat ist schädlich. Auch bei 2 Proz. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ steht alles schon still, und es findet dann überhaupt keine Schwefelabscheidung statt. Bei ca. 1,5 Proz. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ liegt die Grenze der Konzentration, welche die Spaltung noch ermöglicht und ebenfalls die Thiosulfatmenge, welche mit 0,01 Proz. Natriumbikarbonat äquivalent. Es könnte also 0,1 g Natriumbikarbonat (oder 0,05 g Na_2CO_3) das plastische Äquivalent zu 0,5 g Thiosulfat genannt werden.

Bei dem Versuche mit 0,5 Proz. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ist nach 4 oder 5 Tagen die Spaltung vollständig beendet. Wünscht man die Bakterien dann abzusondern und vom Schwefel zu trennen, was nicht ganz leicht ist, so muß man wie folgt verfahren:

Man saugt mit einer Pipette die unterhalb der Haut befindliche Flüssigkeit ab, wobei allerdings schon viele Bakterien verloren gehen; weil die Flüssigkeit jedoch kaum trübe ist, ist dieser Verlust relativ gering. Die aus Schwefel und Bakterien bestehende Haut wird nun mit soviel Benzol geschüttelt, bis aller Schwefel gelöst ist. Hierbei entsteht eine trübe Emulsion, weil das Wasser, welches den Bakterien anhängt, sich nicht abscheidet, sondern als kleine Tröpfchen im Benzol suspendiert verbleibt, und finden in diesen Tröpfchen gerade sich alle Bakterien vor. Läßt man die Emulsion einige Zeit stehen, so sinkt das bakterienhaltige Wasser nach unten, wodurch es möglich wird, den größten Teil des Benzols und also des darin gelösten Schwefels zu entfernen.

Das noch wenig Schwefel und viel Benzol enthaltende Wasser wird nun mit einem Uebermaß Alkohol von 96 Proz. versetzt, welcher sowohl das Benzol wie den Schwefel löst, die Bakterien dagegen quantitativ präzipitiert.

Allerdings ist die so erhaltene Menge an organischer Bakterien-substanz gering, jedoch vermitteltst Permanganat leicht nachweisbar und die Entstehung derselben aus Kohlensäure vollständig gesichert.

Die Reinkultur sowohl der Süßwasser- wie der an den niederländischen Küsten ganz allgemeinen Meeresform gelang auf ähnliche

¹⁾ In den Betrachtungen, welche Herr Natanssohn an die Wirkung des Tetrathionats knüpft, kann ich ihm nicht folgen; dieselben sind unrichtig.

Weise, wie schon von Natanssohn angegeben worden ist. Für die Süßwasserform wurde die oben angegebene Kulturflüssigkeit mit 2 Proz. Agar erstarrt und auf der Platte Material von der schwefelhaltigen Haut abgestrichen. Die Schwefelbakterie wird dann nach ein paar Tagen kenntlich durch die starke Schwefelabscheidung auf den Kolonien, welche bei den Verunreinigungen fehlt. Für die Isolierung der Meeresform muß dem Agar noch 3 Proz. Kochsalz zugesetzt werden.

Hat man für die Kultur Nitrat anstatt Ammonsalz als Stickstoffquelle verwendet, so findet man unter den verunreinigenden Formen eine mit *B. Stutzeri* verwandte Bakterie, welche offenbar eine denitrifizierende Wirkung ausübt, wobei die abgestorbenen Schwefelbakterien den organischen Stoff als Energiequelle für die Denitrifikation darbieten.

Die Bakterie selbst ist ein kleines und dünnes Kurzstäbchen von 3 bei $0,5 \mu$, welches keine Sporen erzeugt und sehr beweglich ist.

Die Respirationslinie bildet sich nach dem Spirillentypus, d. h. die Bakterien sammeln sich durch ihre Bewegung in einiger Entfernung vom Meniskus an.

Bei der Aufbewahrung ergibt sich die Art als sehr empfindlich; schon nach einer Woche oder selbst noch früher erweisen sich die Kolonien auf der Agarplatte als abgestorben.

Ich schlage vor, die Süßwasserform *Thiobacillus thioparus* zu nennen.

Ich gehe nun zur Besprechung eines ganz anderen Weges über, der zu farblosen Bakterien führt, welche im Dunkeln Kohlensäure zersetzen und zu ihrer organischen Nahrung verwenden können. Es handelt sich um Denitrifikation vermittelt des freien Schwefels.

2. Die Reduktion der Kohlensäure durch Denitrifikation mit freiem Schwefel als Energiequelle.

Die hier in Betracht kommende Bakterienart ist von der vorigen verschieden, und wird infolgedessen als *Thiobacillus denitrificans* bezeichnet werden. Sie wird durch folgenden Versuch erhalten, wobei als Energiequelle, welche zur Kohlensäurezerlegung Veranlassung gibt, gediegener Schwefel fungiert, welcher durch Denitrifikation in Sulfat verwandelt wird.

Zur Ausführung des Versuches wird, wie folgt, verfahren: Eine gut geschlossene Flasche ist gänzlich angefüllt mit:

Grabenwasser	100
Schwefel als Pulver	10
KNO^3	0,05
Na^2CO^3	0,02
CaCO^3	2
K^2HPO^4	0,02

und es wird bei 30°C kultiviert. Außer denitrifizierenden Bakterien, welche auf Kosten der organischen Substanz des unreinen Wassers leben, enthält das Wasser auch *T. denitrificans* in genügender Menge, um auch den Denitrifikationsprozeß mit Schwefel als Grundlage einzuleiten, so daß nach 5 bis 6 Tagen ein regel-

mäßiger Stickstoffstrom sich zu entwickeln beginnt. Man impft nun in die gleiche Flüssigkeit über, worin jedoch das unreine Wasser durch destilliertes Wasser ersetzt ist. Also in

H ² O	100
Schwefel	10
KNO ³	0,05
NaCO ³	0,02
CaCO ³	2
K ² HPO ⁴	0,02
MgCl ²	0,01.

Darin wird innerhalb einer Woche der gleiche Vorgang, jedoch in beträchtlich stärkerer Intensität bemerkbar. Dieser verläuft der Hauptsache nach nach der Formel

$6\text{KNO}^3 + 5\text{S} + 2\text{CaCO}^3 = 3\text{K}^2\text{SO}^4 + 2\text{CaSO}^4 + 2\text{CO}^2 + 3\text{N}^2$,
welcher Vorgang exothermisch ist und 659,5 Kalorien entwickelt, also ca. 1 Kal. pro Gramm zerlegten KNO³.

In einer Flasche von 210 cm³ wurden 900 mg KNO³ in 12 Tagen zum Verschwinden gebracht, wobei der Salpeter je in Dosen von 100—200 mg zugesetzt wurde, wenn es sich zeigte, daß die vorher zugesetzte Menge verschwunden war.

Die Schwefelmenge, welche dem verschwundenen Nitrat entspricht, beträgt nach obiger Formel, wenn als BaSO⁴ gewogen, 0,4325 g. Faktisch wurden jedoch nur 0,283 gr BaSO⁴ gefunden, so daß ungefähr die Hälfte des Salpeters auf andere Weise zerlegt sein muß, wahrscheinlich durch einen Denitrifikationsprozeß auf Kosten von organischer Substanz von Bakterienleichenamen stammend, welche ihrerseits also wieder auf die Reduktion der Kohlensäure zurückzuführen ist.

Die in den Flaschen oberhalb des sedimentierten Schwefels und der Kreide stehende Flüssigkeit ist anfangs natürlich wasserklar. Beim Fortschreiten der Reaktion trübt sie sich jedoch sehr beträchtlich, und zwar nicht allein durch *T. denitrificans*, sondern auch durch einige andere Bakterien, worunter *T. thioparus*, welcher an und für sich nicht denitrifiziert, in auffallend großer Menge, wie sich aus den Plattenkulturen ergibt, sowie ein sehr feines und eigentümliches Spirillum, welches nicht isoliert werden konnte, und ferner einen *Vibrio* (*Vibrio devorans* n. sp.) und das früher auch schon genannte denitrifizierende, mit *B. Stutzeri* verwandte Stäbchen.

Die Gegenwart von *T. thioparus* zeigt, daß die Flüssigkeit, außer dem Schwefel und Sulfat, auch noch andere Schwefelverbindungen enthalten muß. Es ist denn auch vermittelt einer Spur eines Ferrosalzes leicht, nachzuweisen, daß dazu H²S gehört, sobald das KNO³ verschwunden ist. Doch verschwindet dieser H²S wieder bald, wenn aufs neue Salpeter zugesetzt wird, so daß auch H²S zu einem Denitrifikationsprozeß oder wenigstens zu Nitratreduktion veranlassen kann. Die große Leichtigkeit, womit Schwefelwasserstoff entsteht, wenn die verschiedenartigsten (jedoch durchaus nicht alle) lebenden Bakterien (sowie die aktiven Alkoholhefen) mit Schwefel in Berührung kommen bei Gegenwart von organischer Substanz, hier also mit toter Bakterienleibessubstanz, erklärt die Gegenwart des H²S zur Genüge.

Gerade die große Leichtigkeit, womit man sowohl diesen letzteren Vorgang, wie die früher besprochene Denitrifikation, welche auf der Gegenwart von aus Kohlensäure gebildeter organischer Substanz beruht, in den älteren Kulturen beobachtet, zeigt deutlich, daß der Schwefel in mehrfacher Beziehung eine wichtige Rolle im Kreisläufe der Natur zu erfüllen hat, denn es ist klar, daß dieses Element in seinen verschiedenen Verbindungsformen in den dunkeln Tiefen des Meeres und der süßen Gewässer immerfort tätig ist bei der Neuschaffung von organischer Substanz.

Die Reinkultur von *T. denitrificans* ist schwieriger, wie diejenige von *T. thioparus*, gelingt übrigens auf demselben Kulturboden, also auf

Leitungswasser	100
$\text{Na}^2\text{S}^2\text{O}^3 \cdot 5\text{H}^2\text{O}$	0,5
K^2HPO^4	0,01
NaHCO^3	0,02
Agar	2.

Weil hierbei von *T. denitrificans* ebenfalls Schwefel abgetrennt wird, wenn auch in sehr geringer Menge, muß auch diese Art im stande sein, das Thiosulfat nach der früher gegebenen Formel zu oxydieren. Uebrigens sind die Kolonien gänzlich verschieden von denjenigen von *T. thioparus*, indem erstere als große dünne, beinahe glashelle, schwierig sichtbare, mit Schwefeltröpfchen durchsetzten Anflüge die Agarplatten bedecken, während *S. thioparus* darauf kleine runde, wie trockener, gelber Staub aussehende Kolonien erzeugt.

Auch *T. denitrificans* ist ein Kurzstäbchen, welches sehr beweglich ist und mikroskopisch sich kaum von *T. thioparus* unterscheidet. Wie bei letzterem sind die Kolonien empfindlich und sterben schon wenige Tage nach der Isolierung vollständig ab. Auch verlieren dieselben, selbst bei frühzeitiger Ueberimpfung auf neue Platten gänzlich das Vermögen, weiter zu wachsen, d. h. sie verlieren ihre Vegetationskraft, schon längst, ehe sie abgestorben sind.

Während es nicht gelang, *T. thioparus* auf Fleischbouillon-gelatine zu kultivieren, ist es möglich, *T. denitrificans* darauf zur Entwicklung zu bringen. Es ist aber dazu notwendig, die gewöhnliche Bouillongelatine mit zweimal dem Volum H^2O -Gelatine zu versetzen. Fügt man dann noch überdies 0,25 $\text{Na}^2\text{S}^2\text{O}^3$ hinzu, so geben die Striche, von reinkultiviertem *T. denitrificans* stammend, kleine, viel Schwefel erzeugende Kolonien, welche denjenigen von *T. thioparus* auf den „anorganischen“ Agarplatten ganz ähnlich sind.

Die Zersetzung der Rhodanate findet unter profuser Absonderung von freiem Schwefel unter ähnlichen Bedingungen statt, wie die vorgehend beschriebenen Prozesse, z. B. in der zuerst genannten Kulturflüssigkeit, wenn man darin das Thiosulfat durch $\frac{1}{4}$ Proz. Ammonrhodanat (CNS.NH^4) ersetzt, wobei ein eigentümlicher Biochemismus obwaltet, auf den ich später zurückzukommen hoffe.

Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch.

Von Korpsstabsapotheker Utz, Würzburg.

Die mit der Lebenstätigkeit von Mikroorganismen aufs engste verknüpften, bei der spontanen Gerinnung der Milch auftretenden Erscheinungen sind in den letzten Jahren wiederholt Gegenstand umfassender und eingehender Untersuchung geworden. Die darauf Bezug habende Literatur ist zu einem solchen Umfange angewachsen, daß es auch dem Eingeweihten öfters schwierig ist, das Gesamtgebiet klar zu überblicken oder über eine bestimmte Frage aus demselben eine vollkommen richtige Vorstellung zu gewinnen, zumal über noch so viele Punkte die Ansichten sehr verschieden sind und die einzelnen Anschauungen ihr pro und contra in Gestalt von zum Teil sich widersprechenden, von verschiedener Seite ermittelten Tatsachen aufweisen. Ich habe deshalb zunächst versucht, das Gesamtgebiet der bei der spontanen Milchgerinnung auftretenden Erscheinungen historisch-kritisch zu bearbeiten.

Die alten Daten auf diesem Gebiete hat Kopp in seiner Geschichte der Chemie 1843—1847 zusammengestellt. Ein eingehende, auf dem Studium der Quellen begründete Geschichte der Milchsäuregärung hat Hueppe (Mitt. a. d. K. Ges.-Amt. Bd. II. 1884 p. 309) gegeben.

Die Milchsäuregärung ist bekanntlich ein physiologischer Prozeß, dessen Einzelheiten in noch tieferes Dunkel gehüllt sind als diejenigen der etwas besser gekannten weinigen Gärung. Die Kenntnis von der Gerinnung der Milch unter Bildung von Säure ist uralt; bei verschiedenen Hirtenvölkern finden wir diese Prozesse sogar bis zu einer gewissen technischen Fertigkeit ausgearbeitet. Schon im Jahre 1780 schied Scheele die Milchsäure als besondere Säure aus der sauren Milch ab, aus deren Geschmack man vordem auf die Anwesenheit von Essigsäure geschlossen hatte. Lavoisier sprach von „unvollkommener“ Essigsäure, andere Beobachter von „maskierter“ Essigsäure. Berzelius wies 1807 die Milchsäure auch in tierischen Substanzen nach und schied zuerst streng zwischen Essigsäure und Milchsäure.

Spontan wird Milchsäure am häufigsten beobachtet beim Sauerwerden der Milch; das Auftreten von Milchsäure ist ferner ein wichtiges Moment bei der Bereitung des Brotes, bei der Säuerung der Stärkeabwässer u. dergl.; auch beim Einsäuern von Gurken bildet sich der Hauptsache nach optisch inaktive Milchsäure neben Spuren von Essigsäure und Bernsteinsäure (Aderhold, Centralbl. f. Bakt. 1899. p. 512). Die Zusammensetzung der Milchsäure stellten 1832 Mitscherlich und Liebig fest; die Konstitution der Milchsäure als Oxypropionsäure wurde zuerst von Würtz (1858) und Kolbe (1859) festgestellt, eine Ermittelung, welche durch die Synthese von Strecker bestätigt wurde. Die Konstitution ihrer Isomeren ist erst in neuerer Zeit, besonders durch die Arbeiten

von Wislicenus und Erlenmeyer, bekannt geworden. Die ersten genaueren chemischen Untersuchungen über die Milchsäuregärung verdanken wir Pelouze und Gay-Lussac (*Annal. de Chimie et de Physique*. 1833. p. 410). Letzterer, welcher überhaupt große Umwälzungen auf dem Gebiete der Chemie bewirkte, stellte eine eigene Gärungstheorie auf, nach welcher der Sauerstoff als der Erreger der Gärung anzusehen sei, und diese ausbleibe, wenn dem Sauerstoff der Zugang abgeschnitten werde. Frémy und Boutron-Chalard erklärten 1841 zuerst die Umsetzung des Milchzuckers in Milchsäure als Resultat einer spezifischen Gärung (*Compt. rend. T. XII*. 1841. p. 728) und nahmen an, daß das Kasein der Erreger der Milchsäuregärung sei, ferner, daß die Gärung beliebig lange ausgedehnt werden könne, wenn man die gebildete Säure immer wieder neutralisiert, welche Annahmen noch selbst im Jahre 1889 von A. P. Fokker (*Festschr. d. Med.* 1889. No. 11) in wenig veränderter Form, aber auch mit ebensowenig Erfolg zu verteidigen suchte. Turpin (*Compt. rend. T. V*. 1837. p. 822) und Fuchs (*Magazin f. d. gesamt. Tierheilkunde von Gurlt und Hertwig*. 1841. Bd. VII. p. 133) erklärten zuerst die Zersetzungen der Milch durch die Lebenstätigkeit von Lebewesen; auch Blondeau (*Journ. de Pharm. et de Chim. T. XII*. 1847. p. 244) nahm Lebewesen an, welche aber durch Kontakt wirken sollten. Bis dahin wurde die Milchsäuregerinnung nicht auseinander gehalten von der Gerinnung der Milch durch Lab, und die Labgerinnung wurde von Lehmann (1850), von Hauber und Trommer (1852) und von Soxhlet noch 1873 als Säurewirkung aufgefaßt. Erst Hammarsten (*Malys Jahresber. über die Fortschr. d. Tierchemie*. Bd. II. 1872. p. 118) hat die beiden Gerinnungsvorgänge durch Säure und Lab als vollständig verschieden erkannt.

Rawlandson (Lafar, *Techn. Mykolog.* Bd. I. p. 201) sah im Sauerwerden der Milch einen Oxydationsprozeß und verstieg sich zu der Behauptung, daß eine Kuh, welche vor dem Melken viel herumgelaufen sei und deshalb große Mengen von Sauerstoff eingeatmet habe, eine an diesem Gase reichere und deshalb rascher gerinnende Milch liefere. Die Unhaltbarkeit dieser Ansichten konnte jedoch nicht eher bewiesen werden, als bis es gelang, die Milch künstlich gegen den Eintritt der Gärung zu schützen, ohne ihre sonstige Beschaffenheit zu verändern, d. h. zu sterilisieren und damit eine sichere Grundlage für alle weiteren Beobachtungen zu schaffen. Hier war es Pasteur (*Compt. rend. T. XL*. 1857. p. 913), welcher als erster nachwies, daß die Milchsäuregärung ebenso wie die alkoholische Gärung unter dem Einflusse gewisser, organisierter, belebter Erreger zustande kommt. Die bei diesem Vorgange wirksamen und für diese Art der Gärung charakteristischen Organismen bezeichnete er als „ferment“ oder „levure lactique“; Reinkulturen hatte Pasteur nicht zur Verfügung. Ziemlich später gelang es dann Lister (*Quarterly Journal of Microscopical Science*. Vol. XIII. 1873. p. 380. Vol. XVIII. 1878. p. 117) mit seiner Verdünnungsmethode aus saurer Milch in der Tat ein solches Bakterium in Reinkultur zu gewinnen, das er *Bacterium*

lactis nannte. Seit dieser Zeit ist durch vielfache weitere Forschungen eine große Schar Mikroorganismen sowohl aus der Gruppe der Stäbchen wie der Kugelbakterien entdeckt worden, welche ebenfalls den Milhzucker unter Bildung von Milchsäure zu spalten vermögen; jedoch treten die letzteren, die Mikrokokken, hinter den Bacillen bedeutend zurück.

Roberts (1874), Cheyne (1882), vor allem aber Meissner (1882) wiesen nach, daß unter gewissen Vorsichtsmaßregeln entnommene Milch spontan nicht sauer werde.

Einen weiteren bedeutenden Fortschritt verdanken wir besonders Hueppe (Mitt. a. d. K. Ges.-Amte Bd. II. 1884. p. 309). Derselbe isolierte mit Hilfe der von der Kochschen Schule verbesserten Apparate u. s. w. einen stäbchenförmigen Mikroorganismus, den er in morphologischer und biologischer Richtung genau untersuchte und als den allgemeinen Erreger der spontanen Milchgärung bezeichnete. Anfangs war man zwar der Meinung, daß dieser, mit dem Listerschen Bacillus identische Mikroorganismus die alleinige Ursache der Milchsäuregärung sei, doch gewann Hueppe (Dtsch. med. Wochenschr. 1884. p. 777) selbst aus saurer Milch noch weitere Bakterien, welche ebenfalls im Stande waren, Milchsäure aus Milhzucker abzuspalten. Die damals von Hueppe angenommene Sporenbildung des zuerst isolierten Milchsäurebacillus hat sich später als irrtümlich herausgestellt, ebenso wie die gleichzeitige Angabe von Endosporen der Typhusbacillen durch Gaffky.

Im Jahre 1885 fand Escherich (Fortschr. d. Mediz. 1885. No. 16, 17) im Darmkanal mit Milch genährter Tiere und Menschen neben anderen zum Teil damals schon bekannten Mikroorganismen eine neue Art, welche er als *Bacterium lactis aërogenes* oder „Darmmilchsäurebacillus“ charakterisierte.

Vorher schon (1876) hatte Schützenberger für die Zersetzung des Milhzuckers als erster die bekannte Formel $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4C_3H_6O_3$ aufgestellt, welche in der Folge vielfach bestritten und noch in keinem Falle als sicher zutreffend nachgewiesen wurde.

Diese Forschungen waren der Anfang, welchem bald weitere folgten. So fand Marpmann (Ergänzungshft. z. Centralbl. f. allg. Gesundheitspf. Bd. II. p. 117) in der Göttinger Milch fünf verschiedene, gärungserregende Bakterienarten.

Grotenfeld (Fortschr. d. Mediz. Bd. IV. 1889.) züchtete aus finländischer Milch außer anderen Mikroorganismen einen Milchsäurebildenden anaëroben „*Streptococcus acidilactici*“. A. P. Fokker (Onderzoekingen omtrent melkzuurgisting. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1890. p. 88 u. 509) isolierte außer einem Bacillus auch einen Milchsäure erzeugenden Micrococcus, der mit dem von R. Krüger (Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. p. 425) aus käsiger Butter gezüchteten identisch zu sein scheint. Außer diesen Bakterienarten ist uns eine ganze Reihe anderer bekannt, welche durch die Untersuchungen von Escherich (Darmbakterien des Säuglings 1886), Löffler (Berl. klin. Wochenschr. 1887. p. 631), Adametz

(Landw. Jahrb. 1889. p. 227), Krüger (a. a. O.), Weigmann (Landw. Wochenbl. f. Schlesw.-Holst. 1890. No. 29), Kayser (Annal. de l'Institut Pasteur 1894. p. 738), Flügge (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII. 1894. p. 272), Leichmann (Milchzeitg. 1894. No. 33 und 1896. No. 5), Günther und Thierfelder (Arch. f. Hyg. Bd. XXV. 1895. p. 164) und von Freudenreich (Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1897. p. 230 und 1898. p. 170; 1899. p. 243) festgestellt und beschrieben worden sind. Von den genannten Autoren beschrieb Kayser 15 teils bekannte, teils neu entdeckte Organismen, welche sehr verschiedene Eigenschaften besitzen und sich auch hauptsächlich durch die Temperaturen, bezw. Zeiten unterscheiden, innerhalb welcher sie die Milch gerinnen machen. Jedoch vermögen alle diese Organismen das Zuckermolekül unter Bildung von Milchsäure zu spalten und finden sich hauptsächlich in Milch oder deren Produkten. Jedoch finden sich unter den zahlreichen, in der Literatur aufgeführten Mikroorganismen, welche Milchsäure bilden können, viele Arten, welche mit der natürlichen Gärung der Milch gar nichts zu tun haben und deshalb von Scholl (Die Milch. Wiesbaden 1891) zum Unterschiede von den spezifischen als fakultative Milchsäurebakterien bezeichnet wurden. So beobachteten Nencki und Sieber (Wien. Akademieberichte. Mai 1899. Bd. XLVIII. Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. No. 9) auch bei anderen Gelegenheiten Organismen, welche in Zuckerlösungen Milchsäure bilden. Tate (Journ. of chemical Society, Transact. 1893. p. 1263) fand solche auf Birnen, Epstein (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1899. p. 145) in Rübensäften. Hierher gehört eine ganze Reihe von Mikroorganismen, deren Aufführung an diesem Platze jedoch übergangen werden kann. Der wichtigste derselben ist der von Schardinger (Wien. Akademieber. Bd. XLIX. 1890) im Wasser gefundene *Bac. acidilaevo-lact.*, mit welchem es demselben gelang, die bis dahin nicht dargestellte Linksmilchsäure chemisch rein darzustellen.

Aus all diesen Untersuchungen läßt sich ersehen, daß sich die Ansicht, daß der Hueppesche Bacillus als der wichtigste und häufigste Erreger der spontanen Milchsäuregärung zu betrachten sei, daß aber noch mehrere Bakterien unter Umständen die gleiche Rolle spielen und sogar im Vordergrund des genannten Vorganges stehen können, den meisten Eingang zu verschaffen vermochte. Im allgemeinen muß man jedoch nach den Resultaten der bisherigen Untersuchungen von Nencki (Aus den Sitzungsber. der Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien Bd. XCVIII. 1889. Ref. in Baumgartens Jahresber. Bd. V. p. 481), Schardinger (Sitzungsber. der Wien. Akad. Bd. XLIX. 1890. II. Ref. in Baumgartens Jahresber. Bd. VI. p. 473), Leichmann (Milchzeitg. 1896. p. 67), Kozai (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. p. 337) und anderen annehmen, daß jeder den Milchzucker spaltende Mikroorganismus auch immer nur eine ganz bestimmte unter den verschiedenen Modifikationen der Milchsäure produziere.

Grotenfeld und Scholl (a. a. O.) haben die Beobachtungen von Hueppe dann dahin erweitert, daß es auch Milchsäuregärungen gibt mit einem eigentümlichen Aroma, welches an-

deren fehlt, und daß die Intensität der Milchsäurebildung bei verschiedenen Arten von Bakterien großen Schwankungen unterworfen ist und auch von der Natur und Menge des Eiweißes bei deren Ernährung abhängt. Durch diese Erfahrungen veranlaßt, empfahl Hueppe in einem Vortrage am 2. Februar 1889 in der Generalversammlung des deutschen milchwirtschaftlichen Vereins in Berlin die pasteurisierte oder frische Milch oder den Rahm mit Reinkulturen von bestimmten Milchsäureerregern zu impfen, um auf diese Weise eine Butter von ganz bestimmter Beschaffenheit, z. B. ganz bestimmtem Aroma zu gewinnen. Dieses Verfahren wurde von Grotenfeld in Finnland und Skandinavien eingeführt und von Storch in Dänemark zu großer Vollkommenheit ausgebildet. In Deutschland wurden hauptsächlich von Weigmann Versuche in dieser Richtung gemacht und die Angelegenheit so weit gefördert, daß jetzt schon eine große Anzahl von Laboratorien solche „Säurebildner“ oder „Säurewecker“ in großen Mengen herstellt.

Während die Angaben Hueppes im großen und ganzen bestätigt wurden, fehlte es natürlich auch nicht an entgegengesetzten Ansichten, welche namentlich die maßgebende Bedeutung des Hueppeschen Bacillus anzweifeln. So berichtet Leichmann (Milchztg. 1894. No. 33, 1896. No. 5) von einer Anzahl von Milchproben aus verschiedenen Gegenden Deutschlands, sowie von Stockholm und Umgebung, daß er in denselben außer sonstigen Bakterien nicht den Hueppeschen, sondern einen anderen, von allen früher beschriebenen (also auch vom Hueppeschen), verschiedenen Organismus gefunden habe. Leichmann erklärt die gefundenen Differenzen dadurch, daß Hueppe seine Versuche im Winter ausführte, während diejenigen Leichmanns in den Sommermonaten Juni und Juli ausgeführt wurden. Wenn auch der von ihm gefundene Mikroorganismus nicht ausschließlich auftrat, so wurde derselbe doch vorwiegend vorgefunden. Diese Angaben wurden bald von Weigmann (Milchztg. 1896. No. 10 u. 11) im wesentlichen bestätigt. Auch Conn (Storrs Agricultural Expr. Stat. IV annual Report. p. 172) fand in amerikanischen Milchproben nur in wenig Fällen den Hueppeschen Bacillus, während Esten (Ebenda. 1896. p. 44) in amerikanischer Milch auf Grund vielfacher Untersuchungen den Hueppeschen Bacillus als den spezifischen Erreger der gewöhnlichen Milchsäuregärung bezeichnet. Günther und Thierfelder (Arch. f. Hyg. Bd. XXV. 1895. Heft 2. p. 164 bis 195) fanden in den untersuchten Proben von spontan sauer gewordener Milch konstant eine, und zwar nur eine bestimmte Bakterienart, welche, in sterile Milch geimpft, dieselbe unter starker Säuerung zur Gerinnung brachte. Diese Bakterienart stellt kleine ($1,0 \mu$ lange, $0,5-0,6 \mu$ dicke), an den Enden meist lanzettförmig zugespitzte Stäbchen ohne Eigenbewegung dar, die meist zu zweien vorhanden sind, oder auch in kleine Ketten angeordnet vorkommen, hier und da auch haufenartige Konglomerate bilden. Nach Ansicht beider Autoren ist es sehr wahrscheinlich, daß der von ihnen charakterisierte Organismus mit dem Listerschen *Bacterium lactis* und dem Hueppeschen *Bacillus acidi lactici* identisch

ist; auch mit dem von Leichmann schon früher beschriebenen und *Bacterium lactis acidi* benannten Organismus halten sie ihn identisch, eine Angabe, die von Weigmann im wesentlichen bestätigt wurde.

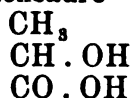
Eine von Leichmann gefundene Art von Mikroorganismen benannte derselbe *Bacillus Delbrückii*; Behrend-Hohenheim hielt diesen mit dem von Lafar als *Bacillus acidificans longissimus* bezeichneten für identisch. Kozai (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. 1899. p. 370) hat in spontan geronnener Milch aus Halle drei Arten von Mikroorganismen gezüchtet und kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse, daß die von ihm als *Bacillus I* bezeichnete Art mit dem von Hueppe beschriebenen und meist als Erreger der Milchsäuregärung bezeichneten *Bacillus acidi lactici* in vielen wesentlichen Punkten nicht übereinstimmt und demgemäß auch mit diesem nicht identisch ist. Dagegen decken sich nach seinen Angaben die Eigenschaften dieses *Bacillus* in allen wesentlichen Punkten durchaus mit denjenigen jener Bakterienarten, welche Leichmann, ferner Günther und Thierfelder und endlich Weigmann aus geronnener Milch gewonnen und denen sie die wichtigste Rolle bei Entstehung der Gärung zuerkannt haben. Kozai hat für diesen Organismus den Namen „*Bacillus acidi paralactici*“ vorgeschlagen. Der von Kozai als *Bacillus II* bezeichnete Organismus weist nur mit dem von Schardinger (a. a. O.) isolierten und *Bacillus acidi laevolactici* genannten einige Ähnlichkeit auf. Kozai bringt für ihn den Namen „*Bacillus acidi laevolactici Halensis*“ in Vorschlag. Die Organismen der Gruppe III Kozais zeigen mit dem *Micrococcus lactis II* Hueppe einige Ähnlichkeit; nähere Beziehungen jedoch scheinen zum *Micrococcus acidi lactici* Krüger zu bestehen, nur der Einfluß auf die Milch ist bei beiden verschieden, so daß Kozai der Ansicht ist, es hier mit einem besonderen, bisher nicht beschriebenen Mikroorganismus zu tun zu haben, dem er den Namen „*Micrococcus acidi paralactici liquefaciens Halensis*“ geben möchte.

Weigmann (Centralbl. f. Bakt. 1898. p. 603) bezeichnet den Leichmannschen *Bacillus acidi lactici* und demgemäß den damit identischen ovalen Coccus von Freudenreich als spezifische Milchsäurebakterien, welche ganz mit den von ihm vielfach gezüchteten Milchsäurebakterien übereinstimmen. Sie bringen die Milch binnen etwa 24 Stunden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur zur vollständigen Gerinnung und verändern sie, äußerlich wenigstens, auch nach mehreren Monaten nicht. Weigmann zieht den Schluß, daß die Milchsäurebakterien bei fortgesetzter Züchtung in Milch die Neigung zeigen, die Milch schleimig zu machen.

Schattenfroh und Grassberger (Centralbl. f. Bakt. 1899. p. 211) haben in der Marktmilch drei Arten von Buttersäuregärungserregern isoliert, welche Milchsäure bilden.

Erwähnt sei noch, daß auch der *Streptococcus* der langen Wei eine Milchsäurebakterie ist; auch Beyerinck rechnet den *Streptococcus hollandicus* zur Klasse der Milchsäurebakterien, der infolgedessen auch die gleiche Wirkung ausübt.

Schwieriger noch als die bakteriologische Seite der Milchsäuregärung ist die chemische. Milchsäure



enthält ein asymmetrisches Kohlenstoffatom und kann daher in Form von zwei Isomeren erscheinen — zwei optisch aktiven: rechts- und linksdrehend — und einer inaktiven, welche durch Vereinigung der beiden ersten entsteht. Die Bakteriengärung ruft gewöhnlich die letztere, inaktive Säure, hervor und man nennt sie daher auch Gärungssäure zum Unterschiede von der Rechtssäure oder Paramilchsäure, welche sich in den Tiermuskeln findet. Aber einen solchen radikalen Unterschied zwischen Bakteriengärung und Zersetzung im Tierorganismus gibt es in der Tat nicht. Schardinger fand, wie bereits oben erwähnt, die Bakterie, welche die bis dahin unbekannte Linksmilchsäure produziert. Nencki und Sieber fanden den anaëroben Micrococcus, welcher ebenso wie die Tiere, die Rechtsmilchsäure erzeugt. Andererseits beobachtete Lewkowitsch, daß der Schimmelpilz, *Penicillium glaucum*, welcher in der Lösung der inaktiven Säure lebt, die Linksmilchsäure zerstört, während die Rechtsmilchsäure unzersetzt bleibt. Pasteur wies nach, daß die Mikroben sehr empfindlich gegen optische Isomerie sind; von zwei ganz gleichen, aber der Polarisationssebene nach entgegengesetzten Isomeren assimilieren die Mikroben die eine, während sie die andere unberührt lassen, wie dies eben auch bei *Penicillium glaucum* der Fall ist. Pasteur vermutete, daß diese Auswahl der einen aus zwei dissymmetrischen Verbindungen durch die Dissymmetrie des lebenden Organismus selbst bedingt sei.

Wie von Günther und Thierfelder bei einer genauen Prüfung des von ihrem Milchsäurebacillus in steriler Milch erzeugten Produktes festgestellt und von Leichmann auch bestätigt wurde, bildet *Bacillus lactis acidi*, wenn es in sterilisierter Milch rein kultiviert wird, stets die optisch aktive, rechtsdrehende Modifikation der Äthyliden-Milchsäure. Demgemäß hätte man auch erwarten sollen, daß sich auch in spontan geronnener Milch die rechtsdrehende Milchsäure immer oder doch vorwiegend würde nachweisen lassen. Indessen fanden Günther und Thierfelder bei ihren diesbezüglichen eingehenden Untersuchungen nur in wenigen Proben saurer Milch ausschließlich Rechtsmilchsäure, in anderen Fällen eine Mischung von inaktiver und Rechtsmilchsäure, und in vielen Fällen lediglich die inaktive Säure vor, welche, wie bekannt, und bereits oben erwähnt, durch Mischung von Rechts- und Linksmilchsäure gebildet wird. Für diese auffallende Tatsache, daß sich nämlich in spontan geronnener Milch gewöhnlich inaktive Milchsäure oder eine Mischung von inaktiver und Rechtsmilchsäure, und nur in seltenen Fällen reine Rechtsmilchsäure findet, während der von Günther und Thierfelder isolierte Mikroorganismus stets reine Rechtsmilchsäure bildet, gibt es nach beiden Forschern vorläufig keine Erklärung.

Kozai fand in spontan geronnener Milch sowohl Rechts- als auch Linksmilchsäure. Péré (Annal. de l'Institut Pasteur. 1892. p. 512) fand, daß ein *Bact. coli* bei bestimmter Ernährung inaktive, bei anderer Rechtsmilchsäure bildet, und daß bei einem Ueberschusse von Pepton keine aktive Milchsäure zu finden ist. Kayser stellte fest, daß dieselben Milchsäurebakterien aus denselben Zuckerlösungen sogar verschiedene Säuren bilden können. Kozai zieht für die Aufklärung dieser verblüffenden Tatsachen drei Möglichkeiten in Betracht. Zunächst erleidet nämlich die Milch bei der Sterilisierung, welcher sie bei den Versuchen unterworfen wird, eine Reihe mehr oder weniger tiefgreifender Veränderungen, die sie von der unbehandelten, bei der natürlichen Gärung beteiligten unterscheidet. Die Natur dieser Umsetzungen ist trotz zahlreicher einschlägiger Forschungen im Einzelnen immer noch nicht mit Sicherheit bekannt. Die Erhitzung bewirkt nach Wróblewski (Oesterr. Chemikerztg. 1898. No. 1) hauptsächlich die Karamelisierung des Zuckers, wobei gleichzeitig kleine Mengen Milchsäure gebildet und die Hauptmenge des Albumins ausgefällt werden. Ferner findet dabei bekanntlich eine Umwandlung einiger gelöster Calciumsalze in unlösliche Verbindungen statt. Bei längerer Erhitzung auf hohe Temperaturen wird auch noch das Kasein angegriffen (Bildung von H_2S) und peptonisiert, das Lecithin und Nukleïn, d. h. die phosphorhaltigen Bestandteile, zerstört u. s. w. Es ist selbstverständlich und einleuchtend, daß diese chemischen Vorgänge auch für die Entwicklung der in der Milch vorhandenen oder in dieselbe gelangenden Mikroorganismen von großem Einfluß sein werden. Einmal ist nach allgemeinen physiologischen Gesetzen anzunehmen, daß das wirklich gelöste Eiweiß, also das Albumin, für die Ernährung der Bakterien von größerem Werte ist als das nur gequollene oder locker suspendierte Kasein und daher der Verlust des ersteren, seine Ueberführung in den ungelösten, geronnenen Zustand von nicht zu unterschätzendem Einfluß sein wird. Diese Anschauung steht im vollsten Einklange mit den von verschiedenen Forschern ermittelten Tatsachen, so von Richet (Compt. rend. T. LXXXVI. 1878. II), Hueppe (a. a. O.), Fokker (Fortschr. d. Medizin. 1887. No. 11), Scholl (Ebend. 1890. No. 2), nämlich daß gerade die Milchsäurebakterien in eiweiß- oder phosphorsäurearmen Nährlösungen geringere Mengen von Milchsäure bilden als in Substraten, welche reicher an den eben genannten Stoffen sind. Nach den Untersuchungen von Kabrhel (Allg. Wien. med. Ztg. 1889. No. 52 u. 53) und Timpe (Arch. f. Hyg. Bd. XVIII. 1893. p. 1) kommt hier allerdings nicht nur die größere oder geringere Nährfähigkeit der betreffenden Flüssigkeiten in Betracht, sondern namentlich auch eine direkte chemische Wirkung, welche das Kasein, das Pepton und der Leim dadurch ausüben, daß sie die in der Kulturflüssigkeit sich bildende Säure binden und so den hemmenden Einfluß derselben auf das weitere Wachstum der Mikroorganismen verzögern. Andererseits ist selbstverständlich die Zusammensetzung des Nährbodens überhaupt, wie in allen übrigen Fällen, so auch hier, von der größten Bedeutung,

sowohl für die Menge wie auch für die Art der von den Bakterien erzeugten Stoffwechselprodukte. So fand P é r é (a. a. O.), daß das *Bact. coli* aus der Fruktose unter sonst günstigen Verhältnissen inaktive Milchsäure, bei mangelhaften Ernährungsbedingungen dagegen Rechtsmilchsäure bildet; eine Erklärung für diese von ihm beobachtete Tatsache glaubt er darin suchen zu müssen, daß die inaktive Form dann in ihre beiden Komponenten zerspalten und die Linksmilchsäure von dem Bakterium verzehrt wird. Etwas später stellte derselbe Autor (*Annal. de l'Institut Pasteur*. 1893. p. 737) fest, daß manche *Coli-Bacillen* ein Gemisch der beiden isomeren Milchsäuren erzeugten, in welchem jedoch die Rechtsmilchsäure um so reichlicher vertreten war, je vorteilhafter die übrigen Ernährungsbedingungen waren; ferner daß bei einem Ueberschuß von Pepton überhaupt kein aktiver Körper gebildet wurde. Kayser (*Ebenda*. 1895. p. 737) behauptete, daß je nach den herrschenden Wachstumsbedingungen auch ein und dasselbe Milchsäurebakterium aus einer gegebenen Zuckerlösung bald Rechts-, bald Linksmilchsäure zu bilden im stande sei (s. oben); dasselbe Resultat erhielt Pottévin (*Ebenda*. 1898. p. 50) mit einem Milchsäure bildenden *Bacillus*. Gleichzeitig fand P é r é (*Ebenda*. 1898. p. 63) seine früheren Angaben bestätigt. Beide letzteren Forscher erhielten mit einer genügenden Menge von Pepton immer Rechtsmilchsäure, während sie bei vermindertem Peptongehalt mit demselben Mikroorganismus fast nur inaktive Milchsäure nachweisen konnten. P é r é fügte dann den betreffenden Nährlösungen statt Pepton Ammoniaksalze bei und erhielt in diesem Falle eine Linksmilchsäure. Diese interessanten Tatsachen lassen sich nach Kozai nur dadurch erklären, daß entweder die anfangs erzeugte inaktive Milchsäure unter schlechten Wachstumsbedingungen zerspalten und dann der eine ihrer beiden Komponenten durch die Bakterien verzehrt wird, oder daß das Bakterienprotoplasma bei verschiedener Ernährungsweise auch wechselnde und in seiner Grundrichtung abweichende Leistungen äußert.

Gamaleia (*Elemente der allgemeinen Bakteriologie*. 1900. p. 74) sagt deshalb auch: „Es gibt keine absolute Spezifität weder für die Ernährung der gegebenen Mikroben, noch für gärende Stoffe, noch für Gärungsprodukte. Ein und derselbe Stoff kann sich mit verschiedenen Substanzen ernähren und verschiedene Produkte erzeugen, ein und dasselbe Produkt kann sich aus verschiedenen Stoffen bilden und im Leben verschiedener Mikroben erscheinen. — Es gibt keine spezifischen Gärungen, es gibt nur verschiedene Typen der Ernährung und mehr oder weniger reine Repräsentanten dieser Typen.“

Wie wir wissen, finden sich in frischer Kuhmilch stets außerordentliche Mengen der mannigfaltigsten Keime vor, zwischen denen ein lebhafter Wettkampf zunächst beginnt, in welchem die Erreger der Milchsäuregärung zum Schlusse die Oberhand gewinnen, weil die gesamten Wachstumsbedingungen für dieselben am günstigsten sind und hauptsächlich die gebildete Milchsäure an und für sich das fernere Gedeihen der übrigen Mikroorganismen verhindern

kann. Aber bis dieser Zustand eintritt, können sich doch die letzteren vermehren und mehr oder minder auf das betreffende Substrat einwirken.

Auch auf dem Gebiete der eigentlichen Gärung findet man Beispiele für die Erscheinung, daß Gemische verschiedener Mikroben Prozesse erzeugen und Substanzen bilden können, welche keine dieser Arten für sich allein zu bilden vermag. So fand Nencki (Centralbl. f. Bakt. Bd. XI. 1892. p. 225), daß der Rauschbrandbacillus in Traubenzuckerlösung Kohlensäure, Wasserstoff, Normalbuttersäure, Essigsäure und inaktive Milchsäure, ein ebenfalls aus rauschbrandigem Materiale stammender *Micrococcus* aber fast ausschließlich Rechtsmilchsäure bildete. Wurden beide Mikroorganismen nun aber gemeinsam in der genannten Nährflüssigkeit gezüchtet, so verlief der Gärungsprozeß erstens viel rascher und zweitens entstanden neben den oben genannten Stoffen noch ansehnliche Mengen des vorher nicht erzeugten Normal-Butylalkohols. Schreider (ebenda. Bd. XII. 1892. p. 289) machte die Wahrnehmung, daß pyogene Streptokokken für sich allein, wie dies auch von Sieber schon nachgewiesen worden ist, die optisch inaktive Milchsäure, in Mischkulturen mit den Diphtheriebacillen dagegen reine Rechtsmilchsäure liefern.

Eine dritte Möglichkeit zur Erklärung der oben erwähnten Unterschiede in den beobachteten Tatsachen ist die, daß neben dem beschriebenen, Rechtsmilchsäure bildenden *Bacillus* noch ein oder mehrere andere bisher übersehene Arten an der natürlichen Gärung beteiligt sein können, die entweder inaktive oder Linksmilchsäure liefern und auch im letzteren Falle dann die Gärungsmilchsäure, die racemische Verbindung der beiden stereoisomeren Milchsäuren, entstehen lassen. Daß es bestimmte Mikroorganismen gibt, welche ausschließlich die eine oder andere isomere Form der Aethylidenmilchsäure liefern, ist außer von Nencki und Sieber (*Micrococcus acidi paralactici*, ein Rechtsmilchsäurebildner, Monatsh. f. Chem. Bd. XI. 1890. p. 545) auch von anderen Forschern festgestellt. Wie bereits erwähnt, fand Schardinger einen *Bacillus* in einem Brunnenwasser (*Bacillus acidi laevolactici*), welcher die Fähigkeit besaß, Linksmilchsäure zu bilden. Ein gleiches Vermögen wurde später noch bei vielen anderen Mikroorganismen beobachtet, so von Tate (Journ. of chem. soc. transact. 1893. p. 1263) bei gewissen auf Birnen gefundenen Arten, bei verschiedenen Vibrionen (Kuprianow, Arch. f. Hyg. Bd. XIX. 1893. p. 282 u. 291; Gosio, ebenda. Bd. XXI. 1894. p. 114), beim Typhusbacillus (Blachstein, Arch. d. scienc. biol. publ. par l'Inst. insp. de méd. expér. à St. Pétersbourg. T. I. No. 1 u. 2), also bei Bakterien, welche mit der natürlichen Milchgerinnung an sich nichts zu tun haben.

Auf den Vorschlag des Herrn Prof. Dr. Lehmann, der mir auf Ansuchen in bereitwilligster Weise das Thema zur vorliegenden Arbeit überlassen hat, habe ich die interessante Frage der spontanen Gerinnung der Milch einer eingehenden Prüfung in chemischer und bakteriologischer Hinsicht unterzogen. Bei dieser

Gelegenheit sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Lehmann für die gütige Ueberlassung des Themas, sowie der benötigten Literatur meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

I. Beschreibung einiger allgemeiner bei den Versuchen angewandter Verfahren.

1) Verfahren von Beijerinck (Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. 1891. p. 782): Vermischen der zuckerhaltigen Kulturgelatine etc. mit Calciumkarbonat, welches letztere die Gelatine zunächst trübt, an den Stellen jedoch, an denen sich säuernde Kolonien entwickeln, aufgelöst wird und dadurch ohne weiteres die säurebildenden Kolonien anzeigt. Auf diese Weise gelingt es leicht und rasch, aus saurer Milch Reinkulturen von Bakterien zu erhalten, welche sterile Milch unter starker Bildung von Milchsäure zur vollständigen Gerinnung bringen.

2) Steriles Calciumkarbonat (nach Günther und Thierfelder): Feinste Schlemmkreide wurde in Reagenzgläser (je etwa 1 1/2 cm hoch) eingefüllt, dann in jedes Röhrchen etwa 10 ccm Wasser gegeben. Die Röhrchen wurden dann mehrere Stunden lang im Dampftopf bei 100° C gehalten. Die Plattengüsse wurden stets in Schälchen angelegt, in die letzteren hinein wurde jedesmal vor dem Ausgießen der Gelatine etc. eine kleine Quantität der sterilisierten Kreideaufschwemmung gegeben, die ausgegossene Gelatine etc. sorgfältig damit vermischt und dann der Erstarrung überlassen.

3) Milchgelatine:

Milch	1000
Pepton	10
Gelatine	100

Lösen, neutralisieren, mit einem Hühnereiweiß mischen, 1 Stunde kochen, filtrieren.

4) Milchezuckergelatine:

1000 g	Leitungswasser
100 g	Gelatine
10 g	Pepton
5 g	Chlornatrium

Lösen, neutralisieren, mit einem Eiweiß mischen, schütteln, kochen, filtrieren, 20 g Milch- bzw. für Traubenzuckergelatine, 20 g Traubenzucker zufügen.

5) Eiweißfreie Nährlösung nach Ushinsky:

Wasser	1000 g
Glycerin	30,0 g
Chlornatrium	5,0 g
Chlorcalcium	0,1 g
Magnesiumsulfat	0,2 g
Dikaliumphosphat	3,0 g
Ammoniumlaktat	6,0 g
asparaginsaures Natrium	3,0 g

6) Sterilisieren der zu impfenden Milch.

Ich nahm 2 1/2-Literkolben oder 4 1/4-Literkolben, welche

mit frischer Milch gefüllt wurden. Die einzelnen Kolben wurden dann mit Wattepfropfen verschlossen und zusammen in den Einsatz des Kochschen Dampftopfes gestellt. Dann kamen sie 1 Stunde lang in den strömenden Dampf von 100° C, wurden hierauf herausgenommen und bei 21° C bei Seite gestellt. Am nächsten Tage erfolgte abermalige Erhitzung während 1 Stunde im Dampfkochtopf, Aufstellen bei 21° C, um am 3. Tage nochmals wiederholt zu werden. Diese Sterilisierungsmethode, welche auch Günther und Thierfelder für brauchbar befunden haben, behielt auch ich durchwegs bei. Die Milch nahm hierbei eine schwach bräunliche Färbung an, war aber sicher steril, wie ich mich regelmäßig durch Versuche überzeugte.

7) Beobachtung und Färbung der Bakterien in der geronnenen Milch.

Nach dem Sauerwerden wurde die Milch gut durchgeschüttelt und ein mikroskopisches Präparat in der Weise hergestellt, daß das auf einem Deckglase ausgestrichene Material getrocknet, dann in der Flamme fixiert, mit Aether entfettet, mit Methylenblau gefärbt und in Balsam eingeschlossen wurde.

Oder nach Arens:

Das Präparat wurde fixiert und in ein Schälchen gelegt, das 5 ccm Chloroform und 1 ccm gesättigte alkoholische Methylenblau-Lösung enthielt. Nach 5 Minuten ließ ich das Chloroform ablaufen und verdunsten und spülte das Präparat mit Wasser ab. Auf diese Weise erhielt ich eine schön isolierte Bakterienfärbung auf ganz blassem Grunde.

8) Untersuchung der gebildeten Milchsäure.

Die Untersuchung der bei den einzelnen Versuchen gebildeten Milchsäure erfolgte im allgemeinen — mit nur geringen Abweichungen — in der allgemein üblichen und auch von Günther und Thierfelder, sowie von Kozai innegehaltenen Weise. Nachdem die Milchprobe geronnen war, wurde das Serum durch ein Faltenfilter abfiltriert und letzteres mit kaltem Wasser einige Male nachgewaschen. Das Serum wurde auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft, der Rückstand mit Phosphorsäure stark angesäuert und mit Aether in der Wärme unter Anwendung eines Rückflußkühlers wiederholt ausgeschüttelt. Von den gemischten ätherischen Flüssigkeiten wurde der Aether abdestilliert, der verbleibende gelb bis braun gefärbte, sirupartige Rückstand in etwas Wasser gelöst und diese Lösung längere Zeit mit Zinkkarbonat gekocht. Hierauf wurde etwas Tierkohle hinzugegeben, einige Zeit lang digeriert, die wasserhelle Flüssigkeit abfiltriert und auf dem Wasserbade entsprechend eingedampft. Beim Erkalten schieden sich dann Kristalle von Zinklaktat ab, die meistens nur einer nochmaligen Umkristallisierung bedurften, um genügende Reinheit für die in Aussicht genommenen Untersuchungen zu besitzen. Nach der zweiten Kristallisation wurde das erhaltene Zinksalz zunächst auf Tontellern und dann über Schwefelsäure im Exsiccator vollständig getrocknet. Das vollständig lufttrockene Präparat wurde

39*

dann auf seinen Gehalt an Kristallwasser und Zink, ferner auf sein Verhalten gegen polarisiertes Licht geprüft.

Lufttrockenes inaktives Zinklaktat verliert beim Erhitzen auf 110°C 3 Mol. Kristallwasser = 18,18 Proz., während lufttrockenes aktives Zinklaktat bloß 2 Mol. = 12,9 Proz. verliert. Der Gehalt des wasserfreien Zinklaktats an Zinkoxyd beträgt 33,33 Proz.

Säuregehalt der Würzburger Marktmilch und Zunahme desselben beim Stehen.

Der Säuregehalt wurde im ganzen bei etwa 60 Proben nach der Methode von Soxhlet bestimmt und schwankte zwischen 6,8—10,0. Die Zunahme der Säuregrade erfolgte bei verschiedenen Milchproben in folgender Weise:

(Siehe Tabelle p. 613.)

Wie Soxhlet bereits nachgewiesen hat, tritt eine Vermehrung der Säure in der Milch nach einem gewissen Zeitraume ein, in dem die Vermehrung der Bakterien fortschreitet; Soxhlet bezeichnet diesen Zeitraum mit dem Namen „Inkubationsstadium“. Derselbe ist natürlich bei den verschiedenen Milchsor ten, wie bereits bekannt und aus vorstehender Tabelle ersichtlich, sehr verschieden und hängt dessen Länge von verschiedenen Umständen, hauptsächlich der Temperatur, der Anfangszahl der in der Milch vorhandenen Säurebakterien u. s. w., ab. Jedoch gibt es eine Höchstgrenze bei jeder einzelnen Milch, bei welcher bei keiner einzigen Milchprobe eine weitere Zunahme der Säuregrade beobachtet werden konnte. Es ist ja bekannt, daß die Milchsäuregärung nur bis zu einem gewissen Grade der Milchsäurebildung, etwa bis zu einem Gehalte von 0,6 bis höchstens 0,8 Proz. der Lösung, fortschreitet und daß sie dann stehen bleibt, indem die Milchsäurebakterien zwar nicht abgetötet, wohl aber scheinbar in eine gewisse Starre versetzt werden, aus der sie nur durch Beseitigung des Milchsäuregehaltes erlöst werden.

Dementsprechend weist natürlich auch das abfiltrierte Serum verschiedene Säuregrade auf:

1) 26,0	6) 31,0	11) 30,4
2) 24,0	7) 28,0	12) 25,2
3) 28,0	8) 27,0	13) 24,0
4) 20,0	9) 26,9	14) 29,6
5) 27,0	10) 20,8	15) 23,2

Hieraus folgert, daß auch die Mengen des von den verschiedenen Proben geronnener Milch gewonnenen Zinklaktats sehr verschieden sind. Wenn auch eine quantitative Bestimmung als überflüssig unterblieb, war doch der Unterschied zum Teil so beträchtlich, daß bei vollständig gleicher Arbeitsweise bei einzelnen Proben erheblich geringere Mengen Zinksalz erhalten wurden als bei anderen.

Escherich fand als nicht gasförmige Stoffwechselprodukte, welche die aërogenes-ähnlichen Bakterienarten beim Wachstum in

Herkunft	Temperatur	Ge- standen Stunden	Säure- grade Soxhlet
Gärtner in der Zellerau	17° C	frisch 1 2 3 4 6 21 29	6,8 6,8 6,8 6,8 7,2 9,6 12,4 27,6
dieselbe Milch	37° C	1 2 3 4 6 8 21	8,2 8,4 8,4 8,6 13,8 20,0 38,6
Milchhandlung Zellerstraße	17° C	frisch 1 3 4 5 6 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 36	8,4 8,4 8,4 8,4 8,4 14,0 16,2 18,4 20,8 22,4 24,4 26,4 28,0 29,2 29,6 36,0
dieselbe Milch	37° C	1 2 4 5 6 8	8,4 8,4 10,4 12,4 14,4 27,2
Höchberg. Milchbauer	17° C	frisch 10 17 20 21 22 23 37	8,2 14,6 31,6 33,2 34,0 34,4 34,4 34,4
dieselbe Milch	37° C	10 17 20 21 22 23 37	20,3 25,5 27,1 30,8 32,0 34,7 35,8

Milch oder milchzuckerhaltigen Nährflüssigkeiten erzeugen, nur Milchsäure. Baginsky (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XII. 1888. Heft 5. p. 454) dagegen will vorwiegend Essigsäure und nur Spuren von Milchsäure nachgewiesen haben.

Da auch nach verschiedenen Autoren (Haa ke, Arch. f. Hyg. Bd. XLII. 1902. p. 16—47) außer Milchsäure bei der spontanen Gerinnung der Milch auch Essigsäure entstehen soll, und zwar in nicht unbeträchtlichen Mengen, so wurde zunächst auch versucht, diese dadurch zu bestimmen, daß sie mit Wasserdämpfen destilliert wurde. Leider wurden aber sämtliche hierbei erhaltenen Destillate mittels des Uffelmannschen Reagens so stark milchsäurehaltig gefunden, daß die Versuche als aussichtslos wieder aufgegeben wurden. Jedoch gelang es mittels der üblichen Reaktionen (siehe Schmidt, Pharm. Chem. Bd. II. 1896. p. 331) leicht, die Anwesenheit von Essigsäure nachzuweisen. Wie ich mich durch angestellte Kontrollversuche überzeugte, ist Milchsäure mit Wasserdämpfen sehr leicht flüchtig, so daß diese Trennungsmethode nicht in Anwendung kommen kann.

Grimbert (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895. p. 840 u. T. X. 1896. p. 708; ferner Compt. rend. 1896. p. 260) fand Bernsteinsäure und Essigsäure.

M. E. Kayser, Etudes sur la fermentation lactique (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1895. p. 737) fand bei der milchsäuren Gärung von Gasen nur Kohlensäure, von nicht gasförmigen Produkten Milchsäure und Essigsäure, Spuren von Ameisensäure, Aceton und Alkohol. Bernsteinsäure wurde nicht gefunden. Die Mengen der gebildeten fixen und flüchtigen Säuren sind bei den verschiedenen Fermenten, wie auch bei demselben Fermente in verschiedenen Nährböden sehr wechselnde. Blumenthal (Virch. Archiv. Bd. CXXXVII. p. 539 u. Bd. CLIV. p. 65) will neuerdings in spontan geronnener Milch nicht immer Milchsäure, sondern viel öfter reine Bernsteinsäure oder ein Gemisch beider gefunden haben. Dagegen hat Kozai (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1901. p. 386—410) in den meisten untersuchten Proben reichlich Milchsäure, in wenigen auch geringe Mengen Bernsteinsäure nachweisen können. Ameisensäure wurde nie, Buttersäure häufig nachgewiesen.

Natur der bei der spontanen Milchgerinnung gebildeten Milchsäure.

Kozai (a. a. O.) behauptet, daß die Gärungstemperatur einen entscheidenden Einfluß auf die Natur der entstehenden Milchsäure ausübt, da in sämtlichen untersuchten Milchproben, die bei Zimmerwärme zur Gerinnung gekommen waren, sich entweder reine Rechtsmilchsäure oder auch ein kleiner Rest von inaktiver Säure vorfand, während jene Milchproben, die bei Brüttemperatur zur Gerinnung gebracht worden waren, die Milchsäure entweder als reine optisch-inaktive Form enthielten, oder aber sie zeigte wegen Mangel an Linksmilchsäure zugleich eine geringe Menge der rechtsdrehenden Säure. Nach den Behauptungen Kozais schiene also die Bildung der Linksmilchsäure in sehr viel ausgiebigerem Maße stattzufinden

bei höherer, als bei niedrigerer Temperatur. Mit diesen Angaben stehen die Beobachtungen von Günther und Thierfelder (Hyg. Rundschau Bd. X. 1900. p. 769—771) im Widerspruche. Bei ihren diesbezüglichen eingehenden Untersuchungen fanden sie nur in wenigen Proben saurer Milch die Rechtsmilchsäure ausschließlich, in anderen eine Mischung von inaktiver und Rechtsmilchsäure, und in vielen Fällen lediglich die inaktive Säure vor, die durch die gleichzeitige Entstehung der Rechts- und der Linksmilchsäure entstanden war. In drei verschiedenen Berliner Milchproben, welche bei 20, 28 und 37° C der Gerinnung überlassen worden waren, entstand stets nur Rechtssäure. Von 5 anderen Proben, die bei 18 und 37° C gehalten wurden, enthielten zwei Proben (Berlin und Halle) reine Rechtsmilchsäure, zwei Proben (Berlin und Halle) ein Gemisch von inaktiver und Rechtsmilchsäure, während nur eine einzige Probe bei 18° C reine Rechtsmilchsäure und bei 37° C inaktive Säure enthielt. Eine Linksmilchsäure bildende Bakterie haben Günther und Thierfelder bisher nicht gefunden. Ueber die Ursachen dieser Abweichungen in der Natur der bei der Gerinnung der Milch entstehenden Milchsäure je nach Zeit und Ort lassen sich vorläufig befriedigende Erklärungen nicht geben. Die Temperatur hat jedenfalls auf die Art der Säure keinen konstanten Einfluß. Günther und Thierfelder stellen den weiteren Satz auf: Die Natur der bei der spontanen Milchgerinnung gebildeten Milchsäure wechselt je nach Zeit und Ort, ohne daß man über die Gründe dieser Erscheinung eine befriedigende Erklärung abzugeben vermöchte.

Um nun 1) die Art der gebildeten Säure festzustellen, 2) eine etwaige Einwirkung der Temperatur auf die Art der gebildeten Milchsäure nachzuweisen, habe ich von jeder Milchprobe, um auch genügend Material für die weiteren Untersuchungen zu erhalten, 3 l genommen, von welchen ich die eine Hälfte = 1½ l bei Zimmertemperatur (etwa 17—18° C) sich selbst überließ, während die andere Hälfte genau in der Weise, wie Kozai es getan, weiter behandelt wurde, und zwar in folgender Weise. Die Milch wurde in einen sterilisierten Glaskolben gegossen und im Brutschrank bei 37—37,5° C bis zur erfolgten Koagulation stehen gelassen. Das jeweils aus dem Serum erhaltene Zinksalz wurde in üblicher Weise weiter untersucht. Die Resultate dieser Versuche sind aus nachstehender Tabelle ersichtlich.

Zu bemerken ist hier, daß für die Bestimmung des spezifischen Drehungsvermögens ein großer Polarisationsapparat, gelbes Licht, entsprechend der Fraunhoferschen Linie D, sowie ein 200 mm-Rohr benutzt wurde. Die Berechnung erfolgte nach der bekannten Formel

$$[\alpha] = \frac{100 \alpha}{d \cdot l \cdot p}$$

worin:

α = beobachteter Ablenkungswinkel,

l = Länge der Flüssigkeitssäule in Dezimetern,

d = Dichte der drehenden Flüssigkeit,

p = Gewichtsmenge aktiver Substanz in 100 Gewichtsteilen Lösung.

No.	Bezeichnung der Milchproben	Kristallwasser- gehalt (120° C) in Proz.	Gehalt an Zink- oxyd in Proz.	Bestimmung des Drehungsvermögens		
				Zinklaktat in 25 ccm Lösung g	Ablenkungs- winkel bei 15° C Minuten	Spezifisches Drehungsver- mögen = α_D
1	Milchhandlung in der Kaserngasse	19,98	34,09	0,322	± 0	—
2	" " " "	15,42	33,79	0,350	± 0	—
3	" " " "	19,34	33,33	0,408	± 0	—
4	Milchhandlung an der Mainbrücke					
	a. bei Zimmertemperatur	13,12	33,11	0,300	— 16	— 6,93
	b. bei 37,5° C	18,07	33,20	0,300	± 0	—
5	Josefshof					
	a. bei Zimmertemperatur	14,10	33,71	0,452	— 16	— 7,36
	b. bei 37,5° C	13,24	33,43	0,278	— 9	— 6,73
6	Dampfmolkerei					
	a. bei Zimmertemperatur	14,50	33,62	0,662	— 24	— 7,55
	b. bei 37° C	16,60	33,50	0,356	± 0	—
7	Hettstädter Hof					
	a. bei Zimmertemperatur	17,15	32,99	0,258	± 0	—
	b. bei 37,5° C	16,17	33,12	0,282	± 0	—
8	Milchhändler von Höchberg					
	a. bei Zimmertemperatur	14,60	33,32	0,267	— 9	— 7,00
	b. bei 37,5° C	13,76	33,47	0,353	— 11	— 6,48
9	Eggenburg b. Kirchheim (Schloßgut)					
	a. bei Zimmertemperatur	18,25	33,31	0,173	± 0	—
	b. bei 37,5° C	17,10	33,39	0,422	± 0	—
10	Schloßgut in Thüngen					
	a. bei Zimmertemperatur	19,12	33,85	0,377	± 0	—
	b. bei 37,5° C	13,42	33,71	0,250	— 5	— 2,5
11	Dampfmolkerei					
	a. bei Zimmertemperatur	16,70	33,53	0,389	\pm	—
	b. bei 37,5° C	15,23	33,27	0,301	— 7	— 4,84
12	Oekonom in der Zellerau					
	a. bei Zimmertemperatur	18,12	33,20	0,202	± 0	—
	b. bei 37,5° C	17,91	32,99	0,156	± 0	—
13	Gut Neumühle					
	a. bei Zimmertemperatur	19,50	34,03	0,235	± 0	—
	b. bei 37,5° C	17,36	33,54	0,250	± 0	—
14	Gut Oberzell					
	a. bei Zimmertemperatur	14,35	33,86	0,265	— 8	— 6,28
	b. bei 37,5° C	17,97	33,32	0,218	± 0	—
15	Hofgut in Rottendorf					
	a. bei Zimmertemperatur	16,33	33,98	0,277	\pm	—
	b. bei 37,5° C	18,10	33,52	0,319	\pm	—
16	Milchhandlung in der Kaserngasse					
	a. bei Zimmertemperatur	14,10	33,70	0,263	— 10	— 6,92
	b. bei 37,5° C	15,13	33,50	0,345	— 12	— 6,76
17	Milchhandlung an der Mainbrücke					
	a. bei Zimmertemperatur	19,05	33,39	0,335	\pm	—
	b. bei 37,5° C	17,26	33,20	0,50c	\pm	—

No.	Bezeichnung der Milchproben	Kristallwasser- gehalt (120° C) in Proz.	Gehalt an Zink- oxyd in Proz.	Bestimmung des Drehungsvermögens		
				Zinklaktat in 25 ccm Lösung g	Ablenkungs- winkel bei 15° C Minuten	Spezifisches Drehungsver- mögen = α_D
18	Josefshof					
	a. bei Zimmertemperatur	18,32	34,05	0,237	+	—
	b. bei 37,5° C	16,78	33,65	0,520	— 5	— 2,01
19	Oekonom in der Zellerau					
	a. bei Zimmertemperatur	16,95	32,99	0,237	— 4	— 3,51
	b. bei 37,5° C	18,21	33,12	0,315	+	—
20	Oekonom in der Zellerau					
	a. bei Zimmertemperatur	13,56	33,39	0,511	— 19	— 7,73
	b. bei 37,5° C	17,80	33,27	0,365	+	—
21	Gut Eggenburg b. Kirchheim					
	a. bei Zimmertemperatur	13,71	33,71	0,300	— 11	— 7,63
	b. bei 37,5° C	12,87	34,22	0,275	— 10	— 7,57
22	Höchberger Milchhändler					
	a. bei Zimmertemperatur	18,19	34,09	0,259	+	—
	b. bei 37,5° C	17,85	33,30	0,428	+	—
23	Dampfmolkerei					
	a. bei Zimmertemperatur	15,63	33,36	0,360	— 6	— 3,47
	b. bei 37,5° C	18,02	33,00	0,348	+	—
24	Hettstädter Hof					
	a. bei Zimmertemperatur	17,71	33,86	0,296	+	—
	b. bei 37,5° C	19,50	34,23	0,351	+	—
25	Rottendorf, Gut					
	a. bei Zimmertemperatur	15,28	33,45	0,287	— 5	— 3,61
	b. bei 37,5° C	13,50	33,33	0,382	— 7	— 3,81

Aus der vorstehenden Tabelle ist ersichtlich, daß bei der spontanen Gerinnung der Milch, und zwar sowohl bei gewöhnlicher, wie bei Brutschranktemperatur, sowohl inaktive Milchsäure, wie auch Rechtsmilchsäure, ferner Gemische von inaktiver und Rechtsmilchsäure entstehen können. Ob die eine oder die andere der angegebenen Modifikationen seltener oder häufiger gefunden wurde, ist meines Erachtens belanglos, da sich bei der Untersuchung von weiteren Proben das Verhältnis wohl zu gunsten der einen oder anderen Modifikation zu verschieben vermag. Ueber die Ursachen dieser abweichenden Ergebnisse bei zum Teil gleichzeitig mit verschiedenen Milchproben angestellten Versuchen vermag ich, ebenso wenig wie Günther und Thierfelder, eine Erklärung abzugeben; doch sprechen die erhaltenen Befunde für die von Gamaleia (a. a. O.) aufgestellte These, daß es keine absolute Spezifität weder für gärende Stoffe, noch für Gärungsprodukte gibt.

Auf Grund meiner Versuche kann ich daher den von Kozai (a. a. O. p. 375) aufgestellten ersten Satz: die in spontan ge-

ronnener Milch gebildete Säure ist entweder reine Rechtsmilchsäure oder inaktive Milchsäure oder ein Gemisch dieser beiden Formen, vollauf bestätigen; dagegen stehen die Ergebnisse meiner Versuche mit den Angaben des zweiten von Kozai aufgestellten Satzes, wonach für das Auftreten der einen oder anderen Art die Temperatur, bei der sich die Gärung vollzieht, von entscheidender Bedeutung sei, im Widerspruche mit diesen, bestätigen aber die Ansicht von Günther und Thierfelder, daß eben die Temperatur keinen Einfluß auf die Art der gebildeten Milchsäure ausübt. Wohl wird der Gärungsprozeß, wie ich bei meinen zahlreichen Versuchen zu bemerken Gelegenheit hatte, durch eine höhere Temperatur beschleunigt, das ist der einzige wahrnehmbare Einfluß; auch auf die Menge der gebildeten Säure konnte eine Einwirkung nicht wahrgenommen werden.

Isolierung der Milchsäurebakterien aus spontan geronnener Milch.

Zur Isolierung der Milchsäurebakterien aus spontan geronnener Milch fanden alle Milchproben Verwendung, bei welchen auch die Art der gebildeten Milchsäure festgestellt worden war. Von jeder spontan geronnenen Milch wurde zunächst je 1 Oese in Traubenzuckeragar übertragen, hiervon eine erste, dann noch eine zweite Verdünnung hergestellt, unter Zusatz von sterilem Calciumcarbonat Platten gegossen und diese unter Luftzutritt aufbewahrt. Unter diesen Umständen wurde bei den ersten Versuchen immer nahezu dasselbe Resultat erhalten. Der Keimgehalt der Milch ist bekanntlich ein sehr hoher; die einzelnen Kolonien weisen makroskopisch eine ziemliche Aehnlichkeit auf, welche die Unterscheidung derselben von vornherein bedeutend erschweren könnten. Durch das angegebene Verfahren jedoch konnten die erhaltenen Kolonien von vornherein in säurebildende und in nichtsäurebildende unterschieden werden. Die Platten, namentlich die mit den Verdünnungen hergestellten, zeigten wachstropfenähnliche Kolonien, welche zum Teil glänzend, zum Teil matt waren; auch der Rand bot Unterscheidungsmerkmale, indem derselbe bald glatt, bald ausgebuchtet war.

Von den nichtsäurebildenden Bakterien seien der von Clauss (a. a. O.) bereits aus Würzburger Milch isolierte weiße Porzellancoccus, sowie der Schleiercoccus erwähnt. Die von mir isolierten Mikroorganismen entsprachen vollständig der von Clauss angegebenen Beschreibung. Genannter Autor hat bei beiden Arten selbst nach längerem Stehen keine Einwirkung auf sterile Milch beobachten können. Diese Wahrnehmung habe ich bei meinen diesbezüglich angestellten Versuchen vollständig bestätigt gefunden, so daß also zunächst diese beiden Bakterienarten vollständig von den weiteren Versuchen ausgeschlossen werden konnten. Clauss hat ferner einen grün fluoreszierenden, verflüssigenden Bacillus bei allen seiner Zeit untersuchten Milchproben in großer Anzahl gefunden und beschrieben, doch habe ich diese Art bei keiner einzigen der von mir untersuchten Milchproben angetroffen, obwohl ich mein besonderes

Augenmerk darauf richtete. Wiederholt, doch nicht regelmäßig, habe ich *Bacterium violaceum* angetroffen, welches sich jedoch steriler Milch gegenüber ebenfalls indifferent verhielt; dasselbe ist bekanntlich sehr verbreitet und konnte unter anderem auch aus der Luft in die Milch gelangt sein.

Am häufigsten trat auf den Platten eine Art von Kolonien auf, die zu den säurebildenden Bakterien zu zählen ist, und zwar war es gleichgültig, welchen Säuregrad die betreffende zur Untersuchung gelangende Milch besaß oder bei welcher Temperatur (Zimmer- oder Brutschranktemperatur) dieselbe zur Gerinnung gebracht worden war. Diese Kolonien erschienen nach einem bis mehreren Tagen als kleine, matte, weiße kreisförmig begrenzte Punkte, die, falls sie sich auf der Oberfläche der Platten befinden, bald zur Größe eines Stecknadelkopfes (etwa 2—2½ mm Durchmesser) anwachsen und sich dann allmählich auch gelblich bis gelblich-braun färben; unter besonders günstigen Bedingungen erreichen einzelne Kolonien auch noch Linsengröße, um dann in ihrem Wachstum vollständig unterbrochen zu werden. Die Kolonien sind von einem durchsichtigen, schmalen oder breiteren Säurediffusionsfelde umgeben.

Im hängenden Tropfen betrachtet, fanden sich kurze, etwa ½ mal länger als breite Stäbchen vor, die an den Enden lanzettförmig zugespitzt und ohne Eigenbewegung waren. Meistens hingen 2 dieser Stäbchen aneinander, doch wurden auch kürzere Ketten derselben beobachtet.

Außer dieser einen säurebildenden Bakterienart fand sich jedoch hier und da auf Traubenzuckeragarplatten mit Calciumcarbonat noch eine zweite vor, welche schon makroskopisch ganz bedeutende Unterschiede gegenüber der oben erwähnten aufwies. Während nämlich die vorher gefundene Art meistens sehr kleine Kolonien bildete, zeigten diejenigen der zweiten Art manchmal die Größe eines Nickel-Zwanzigpfennigstückes. In der Mitte der Kolonien befand sich ein rundlicher, erhabener, gelblich gefärbter Punkt, von dem zahlreiche Radien nach der Peripherie ausgingen. Letztere bestand aus zwei oder mehreren konzentrischen Kreisen, die bis zum äußersten Rande durch die erwähnten Radien verbunden sind. Das Ganze macht den Eindruck etwa verschiedener unterschiedlich großer, aufeinander gelegter Räder oder auch von zwei Fächern, welche mit den beiden geraden Seiten aneinander bzw. nebeneinander gelegt sind.

Da ich, wie bemerkt, anfangs nur bei einzelnen Milchproben diese Art von Kolonien beobachtet hatte und nun zunächst vermutete, daß dieser Bakterienart vielleicht der Nährboden nicht zusagen könne, so versuchte ich noch andere Nährböden. Während jedoch bei den meisten dieselben Resultate erhalten wurden, habe ich in allen denjenigen Fällen, wo auf Traubenzuckeragar nicht beide Bakterienarten, sondern nur die zuerst beschriebene beobachtet und isoliert werden konnte, auf Milchzuckergelatine auch die zuletzt beschriebene Art erhalten können, während die erstere Art hier weniger zahlreich, zum Teil sogar sehr spärlich vertreten war: ein Zeichen, daß der *Bacillus* der ersten Art auf Traubenzuckeragar,

der Bacillus der zweiten Art auf Milchzuckergelatine besser gedeihen kann. Im hängenden Tropfen betrachtet zeigte der Bacillus der zweiten Art plumpe, bedeutend größere Stäbchen, als diejenigen der ersten Art waren, ebenfalls ohne Eigenbewegung. Gleich letzteren lagen auch diese meist zu zweien, öfters auch zu mehreren aneinander. Sie besitzen demnach große Aehnlichkeit mit dem Bacillus der ersten Art, unterscheiden sich jedoch von diesem bedeutend durch ihre Größe.

Zu bemerken ist hier noch, daß sich dieselbe Tatsache sowohl bei den bei Zimmertemperatur wie bei den bei Brutschranktemperatur geronnenen Milchproben wahrnehmen ließ. Wie bereits oben erwähnt, übt die Temperatur keinen konstanten Einfluß auf die Art der gebildeten Milchsäure aus; ebensowenig konnte ein Einfluß auf die Menge und die Art der nach dem gleichen Verfahren gezüchteten Bakterienkolonien beobachtet werden.

Selbstverständlich mußte größte Vorsicht beobachtet werden, damit nicht einzelne säurebildende Bakterien sich der Beobachtung entzogen. Wie nämlich Günther und Thierfelder und später auch Kozai angegeben haben, haben dieselben des öfteren Kolonien beobachtet, welche nur einen ganz geringen oder kaum einen Säurerand besaßen. Diese Erscheinung haben dieselben damit erklärt, daß die betreffenden Mikroorganismen in der kurzen Frist ihrer raschen Entwicklung nicht die erforderliche Zeit finden, genügende Mengen von Säure zu produzieren und so das Calciumkarbonat in ihrer Umgebung aufzulösen, außerdem aber noch aus der Tatsache, daß es sich hier vorzugsweise um ein reines Oberflächenwachstum handelt, auf der Oberfläche des Substrates aber die Kreide fehlt, die sich in den tieferen Schichten des Nährbodens ansammelt. Da dieser Umstand leicht zu Irrtümern veranlassen kann, muß man bei der Verwendung von Kreidenährböden besonders vorsichtig sein.

Beschreibung und Verhalten der beiden aus spontan geronnenen Milch isolierten Organismen.

Organismus I.

Derselbe bildet 1—2 μ lange, 0,3—0,5 μ breite Stäbchen, die, wie bereits oben erwähnt, meist zu zweien, öfters jedoch auch zu Ketten aneinander gereiht, beisammen liegen. Mit Fuchsin, sowie Methylenblau sind dieselben sehr gut färbbar. Was die Färbung nach der Gram'schen Methode anbelangt, so habe ich Organismen angetroffen, welche sich sehr gut nach diesem Verfahren färben ließen, während andere sich zum Teil schlecht, zum Teil gar nicht färben ließen. Ich glaubte vorerst zwei verschiedene Arten vor mir zu haben, um so mehr als Lehmann (Grundriß der Bakt. u. bakteriolog. Diagnostik) die nach Gram nicht zu färbenden Mikroorganismen dieser Gruppe als „Aerogenes“ bezeichnet. Als ich jedoch die gleichen Kulturen zu weiteren Nachprüfungen heranzog, bei welchen ich frisch bereitete Lösungen benützte, zeigte es sich, daß auch jene Organismen, welche sich vorher nur schlecht oder gar nicht nach

der Gramschen Methode hatten färben lassen, mit den frisch bereiteten Lösungen stets rasch und tadellos gefärbte Präparate lieferten. Ich habe dieselbe Wahrnehmung dann im Laufe meiner Untersuchungen noch häufiger gemacht und kann daher nur empfehlen, in allen jenen Fällen, in welchen es sich um die Feststellung der Möglichkeit der Färbung eines Mikroorganismus nach Gram handelt, nur frisch bereitete Lösungen zu verwenden. Jedenfalls erscheint die Vermutung nicht gänzlich ungerechtfertigt, daß infolge von Unkenntnis dieser Wahrnehmung schon die richtige Differenzierung manches Mikroorganismus erschwert oder gar vereitelt wurde.

In gewöhnlicher Bouillon wurde nur schwaches Wachstum, nach längerer Zeit ebenso auch eine nur geringe Trübung, später spärliches Sediment gebildet; in Bouillon dagegen, die einen Zusatz von Milch- oder Traubenzucker erhalten hat, findet rasche und intensive Vermehrung der Bakterien statt, welche naturgemäß auch die Abscheidung eines voluminösen Niederschlages zur Folge hat. Hier tritt auch deutliche Säurebildung auf, welche in gewöhnlicher Bouillon nicht wahrzunehmen ist.

Bei Strichkulturen auf Milchzucker-, wie auch auf Traubenzuckergelatine zeigt sich nach einigen Tagen ein äußerst feiner, durchsichtiger Belag, wie von kleinsten Tautröpfchen herrührend, der sich nicht stark über die Fläche verbreitet. Ähnlich verhält sich der Organismus auf schräg erstarrtem Traubenzuckeragar bei Brutschranktemperatur.

Bei Gelatinestichkulturen bildet sich innerhalb des Stichkanales ein feinkörniger Belag, der manchmal an der Oberfläche glatt abschneidet, manchmal aber auch eine ganz minimale Erhebung, nicht größer als ein Stecknadelkopf, bildet. Die Entwicklung schreitet ziemlich langsam vorwärts; beschleunigen läßt sich dieselbe, wenn man der Gelatine Milch- oder Traubenzucker zusetzt. In keinem einzigen Falle wurde Gasbildung beobachtet.

Das Verhalten in Traubenzuckeragarstichkulturen ist nahezu dasselbe wie in Gelatinestichkulturen, nur mit dem Unterschiede, daß sich an der Einstichstelle häufiger als bei Gelatinestichkulturen, ja fast regelmäßig eine, wenn auch nur geringe, Auflagerung wahrnehmen läßt.

Bei den Plattenkulturen, und zwar sowohl mit Milchzuckergelatine als auch mit Trauben- oder Milchzuckeragar unter Zusatz von Calciumkarbonat, entstanden nach 1—2 Tagen sehr kleine, weiße, runde Auflagerungen, welche auch bei längerem Stehen an Umfang nicht merkbar zunahmen; auf den mit der unverdünnten Milch hergestellten Platten konnten Säurediffusionsfelder (bei Zusatz von Calciumkarbonat) nicht wahrgenommen werden, was auch von Günther und Thierfelder (a. a. O.), sowie von Kozai (a. a. O.) schon beobachtet wurde. Dagegen besaßen die einzelnen Kolonien auf den Verdünnungsplatten breite, durchsichtige Säurediffusionsfelder, namentlich am Boden der Platte, wo genügend Calciumkarbonat sich niedergeschlagen hatte.

Auf Kartoffelscheiben erfolgt ein nur spärliches, zum Teil gar

kein Wachstum, während der Mikroorganismus in der Ushinsky'schen Asparaginlösung überhaupt nicht wächst.

Milch wird im Brutschrank in 24—30 Stunden koaguliert, bei Zimmertemperatur in etwa 2—3 Tagen. Das Coagulum ist vollkommen homogen und geschlossen, niemals von Gasblasen durchsetzt.

Auch bei Abschluß der atmosphärischen Luft wächst der Mikroorganismus, wie schon aus dem Verhalten desselben in festen Nährböden gefolgert werden durfte, gut.

Sporenbildung konnte in keinem einzigen Falle beobachtet werden.

Organismus II.

Wie bereits bemerkt, unterscheidet sich der Mikroorganismus II bereits makroskopisch von dem Organismus I. Unter dem Mikroskope zeigen sich 3—4 μ lange, 0,5—1,3 μ breite, plumpe Stäbchen ohne Eigenbewegung, die entweder einzeln oder höchstens zu zweien nebeneinander liegen; längere Ketten konnten nicht beobachtet werden. Mit Methylenblau, Fuchsin, sowie nach Gram sind dieselben gut färbbar.

In gewöhnlicher Bouillon, noch mehr in milch- oder traubenzuckerhaltiger Bouillon wurde bereits nach 1 Tage kräftige Trübung und gleichzeitig ein starkes Sediment wahrgenommen. Auf Milch- und Traubenzuckerbouillon bildete sich gewöhnlich ein Häutchen, nicht dagegen auf gewöhnlicher Fleischbrühe. Reaktion unverändert. Auch im Gärungskölbchen tritt mit Milch- oder Traubenzuckerbouillon starke Trübung ein unter Bildung von Gas, welches als Kohlensäure identifiziert werden konnte.

Bei Gelatinestichkulturen zeigt sich ein gleichmäßig starkes Wachstum in der Richtung des Stichkanales; an der Einstichstelle entsteht eine grobkörnige Auflagerung mit gebuchtem Ringe, die sich ziemlich weit ausbreitet. In der Gelatine treten zahlreiche Gasblasen auf. Bei Traubenzuckeragarstichkulturen ist das Verhalten das gleiche wie bei Gelatine, nur scheint das Wachstum an der Einstichstelle ein noch intensiveres zu sein, da sich die gebildete Auflagerung nahezu über die ganze Oberfläche verbreitet; auch hier findet stets starke Gasentwicklung statt. Die Gasentwicklung war in einigen Fällen so stark, daß die gebildeten dichten Häutchen durch die Blasenbildung in die Höhe gehoben wurden.

Bei Gelatinestrichkulturen bildet sich längs des Striches ein weißer, grobkörniger Streifen, der sich rasch weiter ausbreitet; die Gelatine verflüssigt sich nicht. Von den gebildeten dicken Auflagerungen aus zweigen sich häufig Verästelungen ab. Bei Agarstichkulturen ist das Verhalten genau das gleiche.

Auf Milchzuckergelatineplatten unter Zusatz von Calciumkarbonat ist das Wachstum ein sehr kräftiges, namentlich an der Oberfläche; die tiefer liegenden Kolonien zeigen dagegen ein nur spärliches und langsames Wachstum. Die Säurefelder sind nicht so breit wie beim Organismus I; infolge Gasbildung tritt Zerklüftung der Gelatine ein. Schon nach 24 Stunden zeigen sich feine, weiße Pünktchen, welche rasch an Größe zunehmen. Im

Zentrum erscheinen die Kolonien etwas erhöht, um dasselbe lagern sich dann konzentrische Zonen, die durch radienförmige Ausläufer miteinander verbunden sind; so gleichen die Kolonien 2 aneinander gelegten Fächern und besitzen ein so charakteristisches Aussehen, daß sie mit den Kolonien des Organismus I gar nicht verwechselt werden können. Später färben sich die anfangs weißen Auflagerungen gelblich.

Auf Traubenzuckeragarplatten unter Zusatz von Calciumkarbonat war das Verhalten ein ähnliches wie auf Gelatineplatten, nur scheint das Wachstum auf letzteren ein stärkeres zu sein, da die Kolonien auf Traubenzuckeragar nie so groß wurden als auf den gleichzeitig angelegten Gelatineplatten. Die Säurediffusionsfelder fehlen auf der Oberfläche vollständig; wo sie sich in der Tiefe zeigen, sind sie sehr schmal und meistens kaum wahrnehmbar. Gasbildung konnte auch hier beobachtet werden.

Auf Kartoffelscheiben wächst der Organismus sehr rasch und stark; es entsteht ein dicker, grobkörniger, grauer oder auch gelblicher, später hellbrauner Belag mit ausgebuchtetem Rande.

In der Ushinskyschen Asparaginlösung tritt im Brutschranke nach 24 Stunden eine Trübung ein; öfters bildet sich auch an der Oberfläche ein Häutchen.

Bei Abschluß des Sauerstoffes gedeiht der Organismus ebenso gut wie bei Zutritt desselben.

Bei Milchkulturen war im Brutschranke meistens nach 17—20 Stunden ein gleichmäßig mit Serum durchsetztes Koagulum gebildet, das von Rissen und Spalten in geringem Maße durchsetzt und hie und da so fest war, daß sich die Masse schwer aus dem Kolben behufs Gewinnung des Serums herausbringen ließ.

Art der von den beiden Organismen gebildeten Milchsäure.

Nachdem die bei der spontanen Gerinnung der Milch beteiligten Organismen isoliert und das Verhalten der Kulturen derselben bekannt war, war zunächst festzustellen, welche Art von Milchsäure dieselben zu bilden vermögen. Zu diesem Zwecke wurde Milch, wie vorne angegeben, fraktioniert sterilisiert und, nachdem sich dieselbe als absolut keimfrei erwiesen hatte, mit Reinkulturen des betreffenden Mikroorganismus geimpft. Die derartig vorbereiteten Kolben wurden dann bis zur vollständigen Gerinnung der betreffenden Milchproben im Brutschranke gehalten. Die Natur der gebildeten Milchsäure wurde auf die gleiche Weise, wie bereits früher eingehend beschrieben, festgestellt. Die Resultate dieser Versuche habe ich in folgender Tabelle niedergelegt.

(Siehe Tabelle p. 624.)

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Organismus I aus Milchzucker stets Rechtsmilchsäure, der Organismus II dagegen Linksmilchsäure abspaltet. Zu bemerken ist hier noch, daß jeder der beiden in der gleichen Zeit und bei derselben Temperatur nahezu die gleiche Menge Säure gebildet hatte; die Säuregrade der

No. der Milch- proben	Geimpft mit Or- ganismus	Kristall- wasser- gehalt (120° C)	Gehalt an Zinkoxyd Proz.	Bestimmung des Drehungsvermögens		
				Zinklaktat in 25 ccm Lösung g	Ablenkungs- winkel bei 15° C Minuten	Spezifisches Drehungs- vermögen
1	I	13,68	33,30	0,300	— 11	— 7,64
2		13,29	33,25	0,258	— 10	— 8,07
3		14,02	33,87	0,320	— 11	— 7,16
4		13,37	33,60	0,250	— 9	— 7,50
5		13,60	32,59	0,335	— 12	— 7,46
6		13,95	33,42	0,4525	— 16	— 7,36
7		13,21	33,05	0,400	— 14	— 7,29
8		14,10	33,73	0,225	— 8	— 7,60
9		12,95	32,89	0,550	— 20	— 7,57
10		13,82	33,49	0,320	— 11	— 7,16
11		14,00	33,36	0,500	— 18	— 7,50
12		12,83	33,25	0,300	— 10	— 6,94
13		13,35	33,19	0,255	— 9	— 7,35
14		12,78	32,98	0,200	— 7	— 7,29
15		13,66	33,22	0,300	— 11	— 7,64
16	II	13,81	33,72	0,300	+ 11	+ 7,64
17		12,88	32,88	0,250	+ 9	+ 7,50
18		13,16	33,31	0,510	+ 19	+ 7,76
19		13,08	34,00	0,420	+ 15	+ 7,44
20		13,27	33,60	0,350	+ 12	+ 7,14
21		13,56	33,91	0,265	+ 10	+ 7,86
22		13,32	32,85	0,250	+ 9	+ 7,50
23		12,91	33,30	0,232	+ 8	+ 7,18
24		14,02	33,42	0,200	+ 7	+ 7,29
25		13,50	33,89	0,350	+ 12	+ 7,14
26		13,35	34,12	0,400	+ 15	+ 7,81
27		12,99	33,68	0,185	+ 7	+ 7,88
28		12,83	33,12	0,200	+ 7	+ 7,29
29		13,71	33,70	0,320	+ 11	+ 7,16
30		13,55	33,29	0,286	+ 10	+ 7,28

gewonnenen Sera schwankten nämlich nur innerhalb geringer Grenzen, nämlich zwischen 28 und 31.

Unter diesen Voraussetzungen müßte also, wenn man mit Mischkulturen arbeitete, d. h. keimfreie Milch mit Reinkulturen beider Organismen impfte, in dieser eigentlich inaktive Milchsäure entstehen. So würde auch in einfachster Weise die Tatsache erklärt, daß durch das Zusammenwirken zweier bestimmter Bakterienarten, von welchen die eine Rechts-, die andere Linksmilchsäure bildet, bei der spontanen Gerinnung der Milch ein Gemisch der beiden, nämlich die inaktive Milchsäure, entsteht. Kozai (a. a. O.), welcher 3 Bakterienarten aus spontan geronnener Milch isoliert hat, erklärt dagegen den Vorgang in folgender Weise: „Bei gewöhnlicher Temperatur beherrscht der *Bacillus* I die Szene: es entsteht ausschließlich Rechtsmilchsäure; je mehr nun die Außentemperatur ansteigt, um so energischer entwickelt sich neben ihm *Bacillus* II: die von ihm gelieferte Linksmilchsäure vereinigt sich mit einer entsprechenden Menge Rechtsmilchsäure zur inaktiven racemischen Modifikation, und wir begegnen also einem Gemisch der beiden Formen, in dem die inaktive Art mit der Er-

höhung der Temperatur immer überwiegt. Ohne Bedeutung für diesen Vorgang und das endliche Ergebnis ist es, daß zugleich mit dem Hervortreten der Linksmilchsäurebacillen dann auch noch ein zweites Rechtsmilchsäurebakterium, der *Coccus III* nämlich, zu üppigem Wachstum gelangt.“

Nach Kozai hängt also die Art der gebildeten Milchsäure hauptsächlich von der Temperatur ab. Da ich jedoch bereits vorher in Uebereinstimmung mit Günther und Thierfelder festgestellt hatte, daß die Temperatur keinen Einfluß auf die Art der gebildeten Milchsäure ausübt, habe ich an dieser Stelle diese Angaben Kozais nochmals einer Nachprüfung unterzogen, und zwar mit folgenden Ergebnissen; die einzelnen Milchproben wurden stets mit Reinkulturen des Organismus I und II zusammen geimpft.

No.	Organismus	Temperatur Grad C	Kristall- wassergehalt d. Zinklaktates Proz.	Gehalt des Zinklaktates an Zinkoxyd Proz.	Spezifisches Dre- hungsvermögen des Zinklaktates Grad
1	I und II	15	17,86	33,66	+
2		17	18,52	33,40	+
3		37,5	18,10	33,15	+
4		37,5	17,91	33,85	+
5		17	13,27	33,97	− 7,5
6		17	17,35	33,00	+
7		37,5	12,86	33,16	− 7,6
8		37,5	18,50	34,06	+
9		37,5	13,42	33,43	− 7,7
10		37,5	12,89	33,52	− 7,8
11		17	13,72	33,18	− 7,6
12		17	18,00	33,36	+
13		16	17,39	33,85	+
14		18	18,05	33,60	+
15		37,5	17,98	33,42	+
16		37,5	12,88	33,34	− 7,8

Hieraus ist zu ersehen, daß sich sowohl bei Zimmer- wie bei Brutschranktemperatur bei gleichzeitiger Gegenwart von Rechts- und Linksmilchsäure bildenden Bakterien nicht nur inaktive Milchsäure, sondern auch Rechtsmilchsäure bilden kann; der Temperatur kommt demnach, wie bereits früher erwähnt, ein entscheidender Einfluß nicht zu. Jedenfalls kann man zunächst erwarten, daß sich in diesen Fällen inaktive Milchsäure bilden muß. Durch irgendwelche, bis jetzt noch nicht bekannte Umstände scheint jedoch das Wachstum des Organismus II in geeigneten Fällen gehemmt oder verzögert zu werden, so daß alsdann entweder nur reine Rechtsmilchsäure oder ein Gemisch von Rechts- und inaktiver Milchsäure entsteht, bei welchem erstere vorherrscht. Reine Linksmilchsäure oder ein Gemisch derselben mit inaktiver Milchsäure habe ich bei meinen Versuchen nie beobachtet.

Weitere Untersuchungen habe ich auch darüber angestellt, ob es möglich ist, durch Impfen von Milch, in welcher inaktive Milchsäure sich gebildet hatte, mit einem der beiden Organismen entweder die Rechts- oder die Linksmilchsäure zum Verschwinden zu

Vergleich der bereits beschriebenen Mikro
Mikro

	Bacillus Hueppe	Bacillus Günther und Thierfelder	Bacillus Leichmann
Form	Kurze, plumpe, bewegungslose Stäbchen, 1,0—1,7, vor der Teilung sogar bis 2,8 μ lang, 0,3—0,4 μ dick, meist zu zweien angeordnet, seltener Kettchen von 4 Gliedern bildend.	Kleine 1,0 μ lange, 0,5—0,6 μ dicke, an den Enden meist lanzettförmig zugespitzte Stäbchen ohne Eigenbewegung, die meist zu zweien verbunden sind, aber auch in kleinen Ketten angeordnet vorkommen. In einem Falle wurden vorwiegend längere Ketten beobachtet.	Kurze, unbewegliche, etwa $\frac{1}{2}$ mal so lange als breite, ellipsoidische Stäbchen, die an den Enden leicht abgerundet, fast zugespitzt erscheinen. Vor der Teilung etwas mehr denn doppelt so lang als breit. Charakteristisch ist die Form der Doppelstäbchen, die in allen Kulturen vorwiegend angetroffen werden; doch treten auch Kettchen von 4 Gliedern häufig auf und werden sehr viel längere Reihen nicht gerade selten beobachtet.
Verhalten gegen Anilinfarbstoffe		Die Stäbchen färben sich nach der Gramschen Methode.	
Wachstum in Bouillon		Gewöhnliche zuckerfreie Bouillon wird nur ganz mäßig durch die Entwicklung der eingesäten Bakterien getrübt; die chemische Reaktion wird nicht verändert.	In zuckerfreien Nährlösungen, so in der gewöhnlichen Bouillon, findet keine Milchsäuregärung und dementsprechend nur sehr spärliche Vermehrung des Bacillus, die sich durch leichte Trübung der Bouillon ankündigt, statt.
Wachstum in zuckerhaltiger Bouillon		In Traubenzucker- oder milchzuckerhaltiger Bouillon ist das Wachstum ein sehr rapides; hier findet intensive Trübung der Kulturflüssigkeit unter starker Säuerung statt.	In Bouillon, welche einen Zusatz von Milch- oder Traubenzucker erhalten hat, tritt unter starker wolkiger Trübung deutliche Säurebildung ein.

organismen mit den von mir isolierten.
organismus I.

Bacillus Claus	Bacillus Kozai	Bacillus des Verfassers
Kurze, dicke Stäbchen, $\frac{1}{2}$ mal länger als breit, meist zu zweien aneinander hängend. Die Einzelstäbchen können ovale Kokken vortäuschen.	Mittelgroßes, an beiden Enden etwas zugespitztes, unbewegliches Stäbchen ohne Sporen, das meist paarweise angeordnet ist, nicht selten aber, besonders in zuckerhaltigen Flüssigkeiten, längere Ketten von 10—15 und mehr einzelnen Gliedern bildet.	1—2 μ lange, 0,3—0,5 μ breite Stäbchen ohne Eigenbewegung, an den Enden lanzettförmig zugespitzt. Meistens hängen zwei dieser Stäbchen aneinander, doch wurden auch kürzere Ketten derselben beobachtet.
Beim Färben mit konz. Fuchsinlösung bemerkt man in den gefärbten Stäbchen stärker tingierte zirkumskripte Stellen oder Körner, besonders an den Enden der Bakterien.	Gegenüber den üblichen basischen Anilinfarbstoffen nichts besonderes; die Färbung nach der Gramschen Methode gelingt leicht.	Mit Fuchsin, Methylblau, ferner nach Gram mit frischen Lösungen stets und leicht färbbar.
	Sehr spärliches Wachstum; bei Brutwärme nach 24 Stunden nur eine leichte Trübung der Flüssigkeit. Die Reaktion bleibt unverändert.	Schwaches Wachstum; nach längerer Zeit nur geringe Trübung, noch später spärliches Sediment. Die Reaktion der Fleischbrühe ändert sich nicht.
Schon nach 12 Stunden trübt sich Milchzuckerbouillon, wobei sich ein Bodensatz bildet, auf dem dünne Fäden flottieren. In der Flüssigkeitssäule selbst sind massenhaft Flöckchen suspendiert. Vom Boden steigen rasch hinter einander Bläschen empor, die, an die Oberfläche gekommen, platzen. Mit Lackmus blau gefärbte Bouillon zeigte bereits nach 10 Stunden rote Farbe, die konstant blieb und später noch intensiver wurde.	In Traubenzucker- oder Milchzuckerbouillon ist die Entwicklung eine bedeutend bessere als in gewöhnlicher Bouillon, und im Laufe mehrerer Tage entsteht ein mäßiger Bodensatz. Eine Häutchen- oder Deckenbildung tritt niemals ein. Die anfangs alkalische Zuckerbouillon wird im Laufe des Wachstums stark sauer.	In Bouillon mit Milchzucker- oder Traubenzuckerzusatz rasche und intensive Vermehrung der Bakterien, demgemäß auch Abscheidung eines voluminösen Niederschlages. Deutliche Säurebildung.

	Bacillus Hueppe	Bacillus Günther und Thierfelder	Bacillus Leichmann
Wachstum im Gelatinestich	Zeigt wie alle die Gelatine nicht verflüssigenden Arten das Aussehen der sog. Nagelkulturen. Das Charakteristische derselben ist aber nicht die ganze Nagelform, sondern das Oberflächenwachstum, also der Nagelkopf bietet das Aussehen flacher Knöpfchen.	Das Wachstum erfolgt unter Ausbildung eines feinen, schleierartigen Bandes, welches die durch den impfenden Platindraht gerissene Lücke von oben bis unten gleichmäßig ausfüllt. Ueber die Oberfläche des Nährbodens hinaus ist nirgends etwas gewachsen.	Die Kulturen sind dadurch charakterisiert, daß das Wachstum, im ganzen Stichkanal gleich kräftig, an der Oberfläche scharf abschneidet.
Wachstum im Traubenzuckeragarstich			
Gelatinestrichkulturen			
Traubenzuckeragarstichkulturen	Von Hueppe selbst keine Angaben. Nach Itzerott und Niemann wird ein dicker, weißer Belag gebildet.	Zarte, durchsichtige Beläge, welche wie aus feinsten Tautröpfchen gebildet erscheinen.	Etwa $\frac{1}{2}$ —1 mm breiter, zarter, weißer, kaum merklich über die Fläche sich erhebender Belag.
Gelatineplatten	In Form weißer, porzellanartig glänzender Knöpfchen, die meist Linsengröße erreichen.	Kleine Kolonien, welche im Innern der Gelatine über eine Größe von 0,05—0,12 mm nicht hinausgehen. Sie sind in der Durchsicht meist hellbräunlich gefärbt, von kreisrunder oder rundlicher Gestalt mit glattem Rande und feinkörnigem Inhalt.	Die Kolonien erscheinen anfangs als weiße, später leicht gelbbraunlich durchscheinende, meist kreisförmig begrenzte Scheiben. Unter günstigen Umständen wachsen diese höchstens bis zur Größe eines Stecknadelkopfes heran.

Bacillus Claus	Bacillus Kozai	Bacillus des Verfassers
<p>Längs des ganzen Stichkanales entsteht eine anfangs zarte, später etwas derbere Auflagerung, die an einzelnen Stellen diskrete Kügelchen bildet, die dunkelgelb tingiert erscheinen. Auf der Oberfläche verbreitet sich das Wachstum rasch und bildet einen grauweißen Belag mit unregelmäßigem, gebuchteten Rande.</p>	<p>Entlang des Stichkanales entsteht nach 2 Tagen ein weißer, dünner Streifen, der ziemlich gleichmäßig bis zum Boden fortschreitet. Die Entwicklung ist eine sehr langsame. Ein deutliches Oberflächenwachstum läßt sich nicht bemerken.</p>	<p>Innerhalb des Stichkanales bildet sich ein feinkörniger Belag, der manchmal an der Oberfläche glatt abschneidet, manchmal aber auch eine ganz minimale Erhebung, nicht größer als ein Stecknadelknopf, bildet. Entwicklung ziemlich langsam.</p>
	<p>Entlang des Stichkanales entwickelt sich nach 24 Stunden bei Brutwärme ein feiner Streifen, der ziemlich gleichmäßig bis zum Boden reicht. An der Einstichstelle entsteht keine deutliche Auflagerung.</p>	<p>Nahezu dasselbe Verhalten wie bei Gelatinestichkulturen, nur läßt sich bei Agar häufiger, ja fast regelmäßig, eine, wenn auch nur geringe, Auflagerung wahrnehmen.</p>
	<p>Auf gewöhnlicher, sowie milchzuckerhaltiger Gelatine entsteht 2—3 Tage nach der Impfung ein gleichmäßiger, sehr feiner, weißer, körniger Belag, dessen Wachstum sehr langsam fortschreitet. Rand etwas ausgebuchtet. Verflüssigung tritt selbst nach 2 monatlicher Kultur nicht ein.</p>	<p>Nach einigen Tagen zeigt sich ein äußerst feiner, durchsichtiger Belag, wie von kleinsten Tautropfen herrührend, der sich nicht stark über die Fläche verbreitet.</p>
	<p>Nach 2 Tagen bei Bruttemperatur ein trockener, gleichmäßig dünner, weißer Rasen, der sich nicht wesentlich weiter entwickelt.</p>	<p>Analog den Gelatinestrichkulturen.</p>
<p>Die Kolonien entwickeln sich aus kleinsten, wetzsteinförmigen Kulturen, die deutlich weiß erscheinen. Haben diese die Oberfläche erreicht, so präsentieren sie sich bald als stecknadelkopfgroße Erhebungen, die sich rasch bis zur Linsengröße ausbreiten und einen grauweißen, wachstropfenähnlichen Belag darstellen, der am Rande durchscheinend ist. Der Rand ist glatt, scharf markiert.</p>	<p>Auf gewöhnlicher, sowie auf milchzuckerhaltiger Gelatine sehr feine weiße Pünktchen, die sich als rundliche, ziemlich glattrandige, hellgraue, nach der Mitte zu dunkler werdende, feinkörnige Scheiben darstellen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.</p>	<p>Auf allen Platten, auch solchen mit Zusatz von Calciumkarbonat nach 1—2 Tagen sehr kleine, runde Auflagerungen, welche auch bei längerem Stehen an Umfang nicht merkbar zunehmen.</p>
	<p>Auf Milchzuckergelatineplatten mit CaCO_3 feine, weiße Körnchen mit geringem Wachstum mit breiten durchsichtigen Säurediffusionsfeldern.</p>	<p>Auf Milchzucker- oder Traubenzucker-Gelatineplatten mit Calciumkarbonat kleine Kolonien mit breiten Diffusionsfeldern.</p>

	Bacillus Hueppe	Bacillus Günther und Thierfelder	Bacillus Leichmann
Traubenzucker- agarplatten			
Kartoffelkul- turen	Von Hueppe selbst keine Angaben. Nach übereinstimmender Angabe mehrerer Lehrbücher (Fränkel, Günther, Eisenberg) bildet er eine bräunliche, schmierige, ausgebreitete Auflagerung.	Es scheint nur sehr spärliches Wachstum zu erfolgen.	Wie auf Agar.
Milchkulturen	Führt den Milchsäure in Milchsäure über unter gleichzeitiger Bildung von Kohlensäure, deren Blasen innerhalb der Spalten des gelatinös geronnenen Kaseins gut zu sehen sind.	Keine Angaben; bei der Kultur in Gärungskölbchen mit Traubenzucker- oder Milchsäure-Bouillon findet keine Gasentwicklung statt; auch in Spuren war dasselbe nicht vorhanden.	Charakteristisch ist die Art der Gerinnung des Kaseins. Das Koagulum ist stets vollkommen homogen und geschlossen, niemals von Gasblasen durchsetzt. Die Gärung geht ohne Gasbildung vor sich.
Kulturen bei Ab- schluß von Sauerstoff	Zum Zustandekommen der Milchsäuregärung ist unbedingt Luft-sauerstoff erforderlich. Die Menge der gebildeten Säure wächst proportional der Sauerstoffzufuhr.	Auch bei strengster Anaërobie findet Entwicklung statt.	Die Gärung nimmt bei Ausschuß der atmosphärischen Luft in unveränderter Weise ihren Verlauf.
Sporenbildung	Bildet in den verschiedensten Zuckerlösungen, wie in Milch endständig endogene Sporen.	Irgend etwas, was morphologisch als Sporen hätte gedeutet werden können, fand sich nicht.	In keiner Nährflüssigkeit, ebensowenig in Milch und auf festen Substraten konnte jemals Sporenbildung beobachtet werden.

bringen, oder durch Impfen von Milch, welche Rechts- bzw. Linksmilchsäure allein enthielt, mit dem Organismus II bzw. I diese Säure in die racemische inaktive Form überzuführen.

Wie nämlich Pasteur nachgewiesen hat, sind die Mikroben sehr empfindlich gegen optische Isomerie; so assimilieren dieselben von zwei ganz gleichen, aber der Polarisationssebene nach entgegengesetzten Isomeren die eine, indem sie die andere unberührt lassen, wie dies z. B. bei *Penicillium glaucum* der Fall ist. Pasteur vermutete, daß

Bacillus Clauss	Bacillus Kozai	Bacillus des Verfassers
Auf Agar ist das Wachstum ein gleiches wie auf Gelatine. Unterschiede in Form und Größe sind nicht zu bemerken, nur erscheinen die Kolonien auf Gelatine massiger und weißer wie auf Agar.	Schon am ersten Tage nach der Aussaat feine, weiße Pünktchen, die sich aber nur sehr langsam weiter vergrößern. Die Oberflächenkolonien stellen runde, hellgraue, feinkörnige Scheiben mit glattem Rande dar.	Gleiches Verhalten wie auf Gelatineplatten; nur schien das Wachstum ein in geringem Grade besseres zu sein, auch die einzelnen Kolonien zeigten öfters etwas größere Dimensionen.
Außerst rasches Wachstum, indem er innerhalb 24 Stunden den Nährboden mit einem dicken, 3—4 mm hohen, schmutzig-grauweißen Belag überzieht, der mit zahlreichen Bläschen besetzt ist. An einigen Stellen, wo scheinbar mehrere Bläschen zu einer größeren Blase konfluieren, hebt diese die darüber befindliche Schicht des Belages ab.	Außerst geringfügiges Wachstum; nach 24 Stunden längs des Impfstreiches noch keine sichtbare Veränderung. Nach 3 Tagen entsteht häufig, wenn auch nicht immer, ein kaum wahrnehmbarer Belag, der häufig auch nach langer Zeit keine wesentlichen weiteren Fortschritte zeigt.	Spärliches, zum Teil gar kein Wachstum.
Die Milch, die anfangs gelatinös geronnen, zeigt später hie und da einige Spalten in dem Koagulum, die Bläschen enthalten. Später zieht sich das Koagulum zusammen und in den Lücken sammelt sich ein klares Serum an.	Das Koagulum ist homogen und fest, so daß das Serum nur selten beim Neigen der Röhren zum Vorschein kommt. Dieser Zustand verändert sich auch bei längerer Aufbewahrung nicht; keine Spur von Gasbildung.	Das Koagulum ist stets vollkommen homogen und geschlossen, niemals von Gasblasen durchsetzt.
	Der Befund stimmt ganz mit demjenigen bei Luftzutritt überein.	Gutes Wachstum.
	Keine Sporenbildung.	Sporenbildung wurde in keinem einzigen Falle beobachtet.

diese Auswahl der einen aus zwei dissymmetrischen Verbindungen durch die Dissymmetrie des lebenden Organismus selbst bedingt sei.

Doch sind alle diese Versuche bis jetzt resultatlos verlaufen, so daß ich hier von einer ausführlichen Aufführung der Resultate absehen kann. Jedenfalls vermag sich derjenige Organismus, welcher erst später zugefügt wird, auch unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln gar nicht mehr zu entwickeln, so daß es auch zu keiner weiteren Tätigkeit desselben kommen kann. (Schluß folgt.)

Ueber einige in Kamerun auf *Theobroma cacao* beobachtete Pilze.

Von Dr. Otto Appel,

Reg.-Rat und Mitglied der biolog. Abt. am Kaiserl. Gesundheitsamte, Berlin
und

Dr. H. F. Strunk,

Leiter des botanischen Gartens zu Viktoria, Kamerun.

Mit 13 Figuren.

(Schluß.)

Mit Bezug auf die langausgezogene Endzelle der Konidien nennen wir die Art: *Piricularia caudata* n. sp.

Diagnose: Auf schwarz-braunen, nicht scharf begrenzten Flecken einen weißlichen Ueberzug bildend; Mycel wenig entwickelt, 3—4 μ dick, hyalin; Konidienträger aufrecht, 0,1—0,15 mm lang, am Ende je eine Konidie tragend; Konidien hyalin, schlank keulenförmig mit 2—4 Querwänden in eine lange grannenartige Spitze ausgezogen; Länge der Konidien ohne Spitze 36—45 μ , mit Spitze 80—90 μ , Breite 9—12 μ .

Vorkommen: Auf kranken Kakaofrüchten im botanischen Garten zu Viktoria, in Gemeinschaft mit *Colletotrichum theobromae*.

Corymbomyces albus n. g. et sp.

Im Innern abgestorbener Samenanlagen halbwüchsiger Kakao-früchte finden sich kleine, weiße, rundliche Flecke, die sich unter der Lupe als Krusten erkennen lassen, die dem Substrate nur scheinbar lose aufliegen. Mikroskopisch betrachtet, zeigt sich ein spärliches lockeres Mycel, von dem zahlreiche aufrechte Konidienträger ausgehen. Diese letzteren sind vielfach nach Art einer Trugdolde verzweigt, die Aeste stehen zu 2—3 zusammen und endigen sämtlich nach 2—3facher Verzweigung ziemlich in einer Höhe. Am Ende der letzten Verzweigungen, die am Grunde nicht verdickt, gegen die Spitze aber etwas verjüngt sind, stehen die Sporen in Köpfchen, die sämtlich untereinander zu einer einheitlichen Masse verklebt sind. Die Sporen hängen fest aneinander, so daß sie einzeln kaum zur Beobachtung kommen; sie sind hyalin, elliptisch, an beiden Enden gleichmäßig breit abgerundet, 5—6 \times 3—4 μ . Die Zahl, in welcher sie an den einzelnen Aesten der Konidienträger stehen, ließ sich nicht feststellen, da einzelne Sporenköpfchen äußerst selten zu sehen sind und auch hier eine Zählung durch die feste Verbindung der Sporen unter sich nicht durchführbar ist. An einzelnen Aesten wurden bis 4 Konidien gesehen, der großen Anzahl der vorhandenen Sporen und der Breite einzeln meßbarer Köpfchen (18—21 μ) nach ist es sehr wahrscheinlich, daß eine größere Zahl von Sporen zu jedem einzelnen Köpfchen gehört.

Auch auf der Außenschale von ziemlich ausgewachsenen Kakaofrüchten fand sich derselbe Pilz, der jedoch schon weiter entwickelt war und daher nur noch die Konidienträger erkennen ließ; die Konidien waren bereits abgefallen. Das Bild war in diesem Falle auch dadurch noch verwischt, daß sich verschiedene andere Pilze gleichzeitig angesiedelt hatten.

Seiner ganzen Eigenart nach läßt sich dieser Pilz in keine der bekannten Gattungen unterbringen, weshalb wir ihn als zunächst einzigen Vertreter einer neuen Gattung beschreiben, der wir wegen der auffallenden Ähnlichkeit des mikroskopischen Habitusbildes mit einer Trugdolde den Namen *Corymbomyces* geben.

Im System gehört unser Pilz zu den Hyphomycetes - Mucedinaceae - Hyalosporae - Verticillieae.

Faßt man die Trennung der Botrytideen und Verticillieen, wie es Lindau im Bestimmungsschlüssel der Hyphomyceten in Engler-Prantls Pflanzenfamilien tut, so auf, daß im ersteren Falle die Verzweigungen des Konidienträgers „sehr mannigfaltig, nie aber nur rein wirtelig“ ist, in letzterem Falle dagegen „nur wirtelig“, so müßte man den *Corymbomyces* zu den Botrytideen stellen. Diese Trennung ist jedoch nicht scharf durchgeführt, denn auch bei *Spicaria*, *Cladobotryum* und selbst *Verticillium*, die man zu den Verticillieen stellt, finden sich nicht ausschließlich wirtelige Verzweigungsformen. Deshalb stellen wir den Pilz zu den Verticillieen, mit denen er im allgemeinen mehr Ähnlichkeit hat.

Corymbomyces n. gen.

Hyphen kriechend; Konidienträger aufrecht, trugdoldenartig verzweigt; Konidien hyalin, ellipsoidisch, am Ende der Träger in Köpfchen stehend, verklebt.

C. albus n. sp.

Weißer runde Flecke bildend; Konidienträger drei- bis viermal verzweigt, Äste zu zwei oder dreien auf gleicher Höhe abgehend,

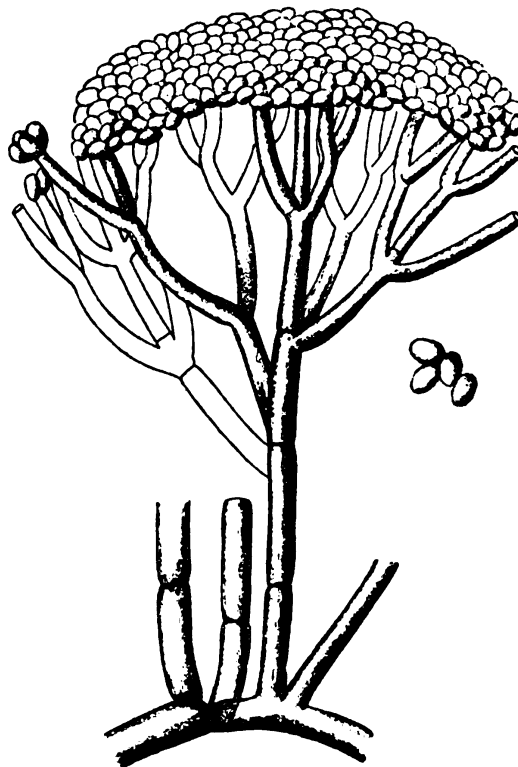


Fig. 10.

alle in gleicher Höhe endigend; Konidien $5-6 \times 3-4 \mu$; innerhalb einer Kolonie sind sämtliche Konidien zu einer einheitlichen, flach über den Konidienträgern ausgebreiteten Scheibe verklebt.

Auf der Schale und im Innern kranker Kakaofrüchte in Viktorias.

Nectria (Eunectria) camerunensis n. sp.

An einer in der Zersetzung schon ziemlich weit vorgeschrittenen Kakaofrucht mit unentwickelten Samen, deren Stiel vermorscht war, fanden sich zwischen den Rippen der Fruchtschale, in unregelmäßigen Zeilen gehäuft, gelbliche Fruchtkörper der Ascoform einer *Nectria*. Es ist fraglich, ob dieser Pilz die Ursache der Erkrankung und Sterilität der Frucht ist, um so mehr als sich zwischen den reichlich die Fruchtschale durchziehenden Mycelfäden auch solche ohne Septierung finden. Als ein Zeichen allgemeiner Zersetzung muß es auch aufgefaßt werden, daß sich im Innern der Fruchtschale reichlich Larven einer zu den Sciariden zu stellenden Art vorfinden.

Die Fruchtkörper sind gelblich und stehen auf einem stark ausgebildeten, aus dem Innern der Fruchtschale weit hervorragenden, oben etwa $2,5 \mu$ breiten Stroma. Diesem sind die rundlich-eiförmigen $0,2-0,3 \mu$ breiten Perithecieen aufgesetzt, manchmal sind sie ihm auch wenig eingesenkt. An ihrem Scheitel ist eine deutliche Mündungspapille zu erkennen. Die Schläuche entstehen in regelmäßiger Anordnung auf dem ganzen Boden der Perithecie und sind mit ihren Scheiteln der Oeffnung schwach zugeneigt; ihre Form ist keulenförmig, nach unten stark verjüngt. Paraphysen sind nicht vorhanden. In jedem Schlauche finden sich 8 Sporen in zweizeiliger Anordnung, die bei den reifen Schläuchen nicht immer völlig deutlich hervortritt. Die Sporen sind hyalin, breitspindelförmig, einmal septiert, $12-15 \times 3-4 \mu$ (Fig. 11b).

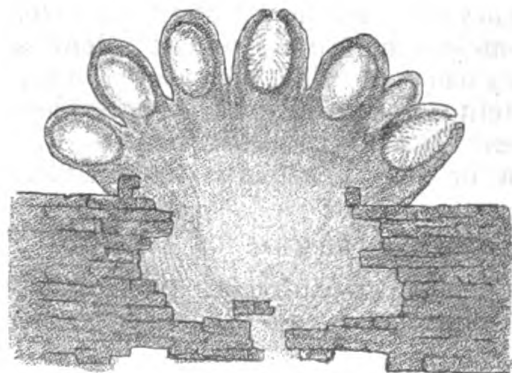


Fig. 11a.



Fig. 11b.

Im allgemeinen stimmt die vorliegende Art mit *Nectria vulgaris* überein, unterscheidet sich jedoch durch die Form der Sporen, die bei *N. camerunensis* zugespitzt, bei *N. vulgaris* aber abgerundet sind. Mit den beiden aus Kamerun von Hennings¹⁾ aufgeführten Arten: *Nectria Jungneri* P. Henn. und *N. epispheeria* (Tode) Fries stimmt unsere Art ebenfalls nicht überein. Eine gewisse Aehnlichkeit hat sie mit der von Marchal²⁾ auf rotem Zuckerrohre am Congo beschriebenen *N. Laurentiana*, doch hat diese monostisch, *N. camerunensis* aber deutlich distich gestellte Sporen.

Diagnose: Perithezien auf dickem, fleischigem, polsterförmigem gelblichem Stroma, dicht gedrängt; 0,2—0,3 mm im Durchmesser, rundlich-eiförmig; Schläuche 8-sporig, 60—75 μ lang, keulenförmig, nach unten verschmälert; Sporen zweizeilig angeordnet, hyalin, breit-spindelförmig, mit einer Querwand; 12—15 \times 3—4 μ .

Auf abgestorbenen Kakaofrüchten in Viktoria.

Fusarium theobromae n. sp.

Der Pilz findet sich fast überall dort, wo die Schalen der Kakaofrüchte Wunden aufweisen, z. B. in den durch Annagen der Ameisen entstandenen Flecken, oder an den abgestorbenen Stellen, welche auf das Saugen der Rindenwanze zurückgeführt werden. Daher kommt es, daß der Pilz fast an jedem der untersuchten Früchte nachgewiesen werden konnte. Sehr häufig überzieht er, dann meist begleitet von anderen Arten, die ganze Oberfläche der Frucht mit einem weißlichen Filz, der an den in Formalin konservierten Früchten ein schorfig-krustiges Aussehen angenommen hatte (Fig. 12). Auf der Fruchtschale fand sich, neben *Fusarium*, in einer Reihe von Fällen *Colletotrichum* und *Corymbomyces*, manchmal auch *Rhabdospora theobromae*, ohne daß nachzuweisen gewesen wäre, welcher der Pilze der primäre war.

An einer der untersuchten Früchte, die das Bild der sogenannten „Braunfäule“ darbot, war die Oberfläche der Fruchtschale frei von *Fusarium*, dagegen waren sämtliche Samen von einem gleichmäßigen, weißlichen, filzigen Ueberzuge bedeckt, der ausschließlich aus *Fusarium theobromae* bestand (Fig. 13). Die Konidien konnten hier besonders reichlich und in den verschiedensten Formen beobachtet werden, da für dieselben eine Möglichkeit des Abfallens nicht bestand. Eine Verletzung, die das Eindringen des Pilzes in das Innere der Frucht ermöglicht haben könnte, war nicht zu erkennen. Zweifellos ist die Erkrankung von der Spitze der Kapsel ausgegangen, was daraus hervorgeht, daß sie dort das am weitesten vorgeschrittene Stadium erreicht hat. Die Frage, ob der Pilz die Fähigkeit besitzt, die unverletzte Fruchtschale zu durchwachsen, muß offen gelassen werden, da dieselbe an dem konservierten Materiale nicht mehr zu entscheiden war.

1) Hennings, *Fungi camerunenses*. II.

2) Marchal, E., Sur quelques champignons nouveaux de Congo. (Bull. de la société belge de microscopie. T. XX. 1894. p. 259 ff.)

Auffallend ist jedenfalls, daß der Pilz an Früchten desselben Baumes, einmal nur die Oberfläche der Fruchtschale überzog, während er in einem anderen Falle sich auf der Schale nicht verbreitete, dagegen im Innern der Frucht üppig wucherte.

Das Mycel ist reichlich entwickelt und besonders im Innern der Frucht zu dichten, sich in Fetzen ablösenden Lappen verflochten; die Konidienträger sind etwas dicker als die verflochtenen Mycel-fäden, stark verzweigt und schnüren an ihren Enden typische *Fusarium*-Konidien ab, die sich in untersuchten Objekten in allen Entwicklungsstadien fanden. Dieselben sind hyalin, in jüngerem Zustande elliptisch, ungeteilt, später spindelförmig, wenig gebogen,

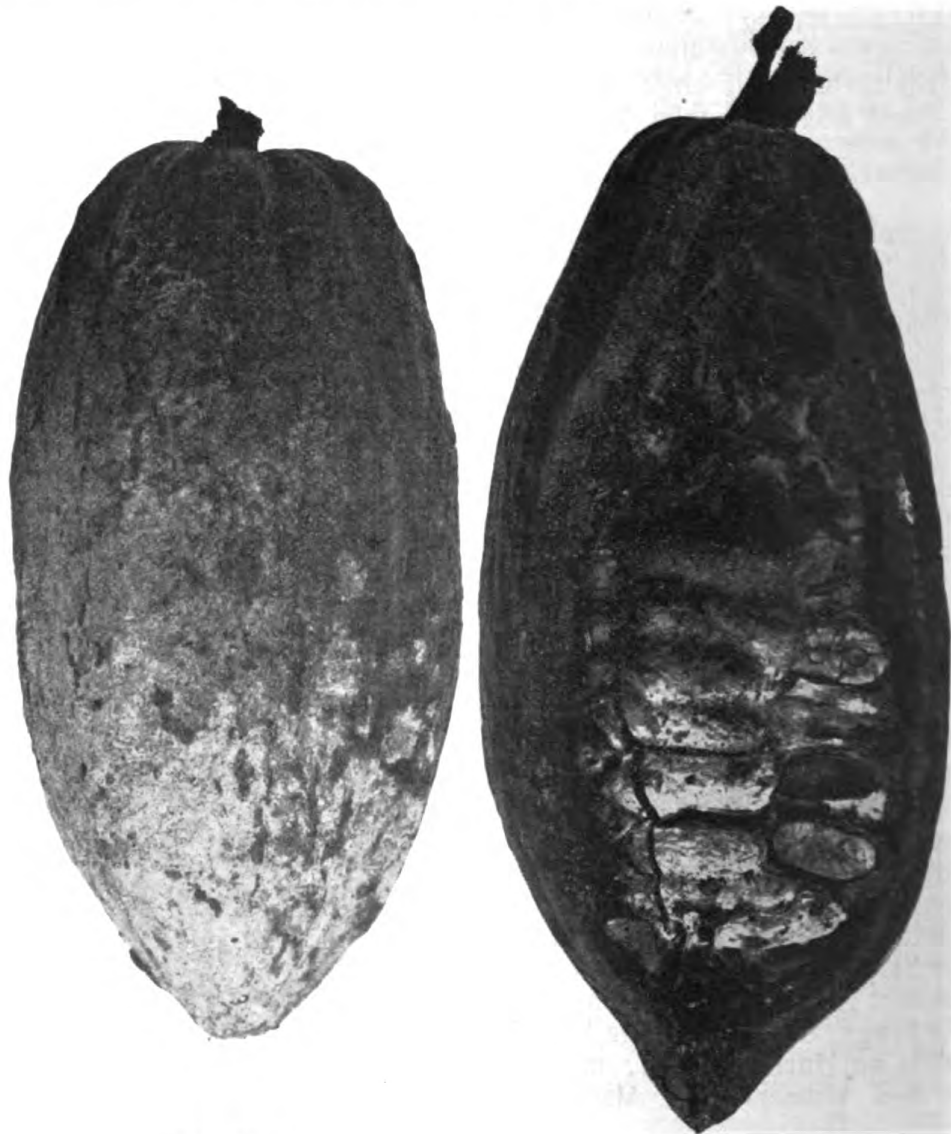


Fig. 12.

Fig. 13.

an beiden Enden zugespitzt, 45—75 μ lang, 5—7 μ breit, mit mehreren Querwänden.

Die Bedeutung dieses Pilzes scheint je nach der Zeit des Befalles für die Früchte verschieden zu sein. Jüngere Früchte werden vollkommen in ihrer Entwicklung gehemmt und fallen ab, da der Stiel, in dem sich dann Mycel findet, morsch wird. Andere bekommen Faulflecke, die nach und nach um sich greifen und zum allmählichen Abfaulen führen. Die ausgewachsene Kapsel, die in Fig. 12 abgebildet ist, hat der Vollreife nahe Samen, so daß eine Gefährdung der Ernte nicht zu erwarten ist; die im Inneren überwucherte Frucht (Fig. 13) ist ebenfalls fast reif, doch sind die Samen so mit Mycel überwuchert, daß eine Schädigung angenommen werden muß.

Bemerkenswert ist ferner, daß auf weiter in der Zersetzung fortgeschrittenen Früchten *Nectria camerunensis* beobachtet wurde. Es wird dadurch die Vermutung nahegelegt, daß das hier beschriebene, sehr verbreitete *Fusarium* in genetischem Zusammenhange mit dieser *Nectria* steht.

Diagnose: Konidienlager ausgebreitet, ohne bestimmte Form, häufig polsterförmig verfilzt, ungefärbt; Konidienträger verzweigt; Konidien hyalin, in jüngerem Zustande elliptisch, ungeteilt, später spindelförmig, wenig gebogen, an beiden Enden zugespitzt, 45—75 μ lang, 5—7 μ breit, mit mehreren Querwänden.

Auf der Schale und auf den Samen verschieden weit entwickelter Kakaofrüchte im botanischen Garten zu Viktoria.

Nachdruck verboten.

A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures.

By F. C. Harrison,

Director, Bacteriological Laboratory Agricultural College and Experiment Station
Guelph, Canada
and

W. T. Connell,

Director, Pathological Laboratory Queen's University, Kingston.

The following investigations were made partly at the Agricultural College, Guelph, and partly at the Eastern Dairy School, Kingston, the latter being done under the direction of the Commissioner of Agriculture and Dairying for the Dominion. The object was to determine the bacteriological conditions existing in Canadian Cheddar cheese when cured at different temperatures; to note the relationship existing between the bacteriological contents and other curing changes; and to learn, if possible, some lessons of practical utility for those engaged in the production of cheese.

Sources of cheese analysed.

The cheese subjected to analysis were of two distinct groups. The first group consisted of those made and kept at the factory at

Carp, Ontario, during the seasons of 1899 and 1900. This lot comprised 28 cheese in all, 14 being analysed in 1899 and 14 in 1900, each cheese being examined a number of time at various intervals. One half the cheese examined each season was kept in an insulated curing room of a temperature varying between 60° and 65° F, the average for both summers being $62,2^{\circ}$ F, the maximum recorded being 67 and the minimum 56. The remaining half was kept in an ordinary curing room in which no attempt was made to control the temperature. The average temperature of this room in 1899, while containing the cheese analysed, was as follows: last fifteen days of June $68,7^{\circ}$ F, July $70,5^{\circ}$ F, August $70,8^{\circ}$ F. The average temperature of this room in 1900 was, July 72° F, August 69° F.

The temperature of the insulated room which was isolated from the ordinary curing room was regulated by the sub-earth duct and by the use of ice in racks. Full details as to methods of structure and insulation of the ordinary curing room and factory are given in the Reports of the Commissioner of Agriculture and Dairying for 1899.

The second group of cheese consisted of those made at the Agricultural College factory. The work in this group related to the effects of ripening cheese at a temperature of about 40° F throughout the whole period of curing, and ripening for 1 and 2 and 3 weeks in an ordinary curing room, and then removing to cold storage — both compared with ripening for the full period in the ordinary curing room.

In these experiments, 5 flat cheddar cheese were made from each curd, and were marked A, B, C, D and E. The cheese were put directly into ice cold-storage, where the temperature averaged $37,8^{\circ}$ F, and the percentage of humidity averaged $91,6^{\circ}$ for the season. The extreme variation in the monthly average temperature of the cold-storage from April to November was 4° ; and the variation in the humidity was also 4° .

The other five cheese were put into the ripening-room, and transfers were subsequently made from the ripening-room to cold-storage, as follows: The B-cheese, at the end of one week; the C-cheese, at the end of two weeks; and the D-cheese, at the end of three weeks. The E-cheese were left in the ripening-room and ripened in the ordinary way at an average temperature of $63,8^{\circ}$ F for the season. The average percentage of humidity in this room was $79,1^{\circ}$ F for the season. The average monthly variations in the temperature of this room were from $86,6^{\circ}$ in July to $58,7^{\circ}$ in November. The humidity varied from 84,3 per cent. in August to 73,7 per cent. in October. The temperature of the air outside averaged $56,9^{\circ}$ F for the season. The average maximum temperature outside ranged from $85,8^{\circ}$ F in July to 39° in November.

The average minimum outside temperature ranged from $59,6^{\circ}$ in July to 24° in November. The month of July was the hottest month of the season, and August was next, with maximum and minimum averages of $79,7^{\circ}$ and $56,5^{\circ}$. June averaged $77,4^{\circ}$ and $53,5^{\circ}$ for maximum and minimum temperatures.

It should be remembered that it is not strictly accurate to take the average temperature by adding together the maximum and minimum temperatures and dividing for the average, as there is often a large variation in temperature, and the temperature for the day would, as a rule, more nearly approximate the maximum figure for a longer period of the day than the average.

Taking of samples. Samples of cheese from the Carp factory were taken by Mr. Woodard, the maker, under the direction of one of us. Samples were always taken of cheese of the same day's make, kept in the regulated and variable rooms, so as to have always a contrast between cheeses of the same age. The samples analyzed and compared were always taken from cheese of the same day's make. The samples were taken with a thoroughly cleansed cheese-borer and immediately placed with great care in sterilized test-tubes, always two of each cheese, in order to have a duplicate in case any accident should befall one of the samples. The cheese-borer was cleansed before using to obtain the second specimen; and the test-tubes were plugged, packed on ice, and forwarded to Kingston, being received about 18 hours after they were taken.

At this point, the analyses might not be entirely reliable; for while specimens usually came in good condition, still on several occasions, the ice in the packing-box was completely melted, and the contents of the box were almost at the temperature of the air — which was likely due to the placing of the box in some exposed place by the carriers. The exact effects of such a change in temperature could not be accurately gauged; but when it was considered to be a factor, the results of the analysis were excluded from the tables.

The samples of cheese taken from the College factory were obtained in a similar way, except that it was not necessary to pack them on ice, as the laboratory is only a few minutes walk from the factory. These samples were promptly taken from the factory to the laboratory and immediately analyzed.

A source of error in the quantitative bacteriological analysis of cheese is the fact, repeatedly determined in control analyses, that plugs from different parts of the same cheese, of the same age, vary as much as 30 per cent. in their bacterial content. Further, even in the same plug, portions of equal weight sometimes show as high as 20 per cent. of difference in the number of bacteria contained in it. A few examples of this fact may be given. Cheese of July, 1902, age 12 days, upper portion of the plug, gave 210 000 000 per gram; lower portions of the plug, gave 293 000 000. Another plug from the same cheese gave 144 000 000 per gram. From a cheese made in September, 1902, the age being 40 days, the first plug gave 27 000 000 per gram; and a second plug from a different part of the cheese gave 22 500 000 per gram.

We have also noticed in abnormal cheese, made by adding a culture of a gas-producing germ to the milk, that in the separate particles of curd which unite to make the cheese, the exterior sur-

face of each particle contains a larger number of bacteria than the interior thereof. Thus, in an analysis of cheese made in November, the exterior, or outer surface, of the curd particles gave 456 000 000 per gram, while the interior thereof gave 51 000 000 per gram; and again, at a later date, the exterior and interior of the curd particles in the same cheese gave respectively 67 000 000 and 37 000 000 per gram.

These examinations, which are typical of many others which we have made, show that there is not an even distribution of bacteria throughout the substance of a cheese, and it would, therefore, seem necessary to modify somewhat our methods of analyses.

Methods employed in the analysis of samples. The samples sent from Carp factory to Kingston were all subjected to an examination by the methods of culture. Control microscopic examinations of the cheese were frequently made to determine if there were in them any forms which did not develop in the culture plates. No forms were found, however, except those which developed in the cultures.

The medium used for the culture of the bacteria contained in the cheese from the Carp factory was the ordinary beef-peptone-gelatine (12 per cent.). Agar proved entirely unsuitable for the requirements of the investigation. The cultures were made aërobically, the few cultures made anaërobically not showing the development of any forms except those found in the ordinary plates.

The medium used for the Guelph cheese was peptone-whey-gelatine (10 per cent.), with or without the addition of blue litmus, precipitated chalk, or rosolic acid. Usually two plates were made from beef-peptone lactose gelatine. For each sample, from 5 to 7 plates from each specimen were made.

As the methods employed at Kingston were somewhat different from those used at Guelph, we shall briefly outline these methods.

The Kingston method. Usually 0.1 gram of the interior of the plug was taken and thoroughly pulverized in a sterile mortar with coarse granulated sugar. The sugar had been previously sterilized by soaking under ether for 2 to 7 days and then carefully evaporating the ether.

The finely pulverized mass was then washed with a measured amount of sterile water into a sterilized shaking-bottle, and this was kept constantly agitated so as to secure a thorough and even admixture. The amount of dilution required varied with the age of the cheese. It was found that for green cheese a dilution of one part of cheese in 20 000 to 100 000 parts of sterile water was required. This dilution was commonly effected as follows: 100 cc of water were used to dissolve the powder and wash it into the first sterile shaking-bottle. After this bottle had been thoroughly agitated for at least three minutes, 5 cc were quickly removed with a sterile pipette and added to a second shaking-bottle. To this was then added as many cubiccentimeters as would make the dilution required. By this means one avoided the use of a large

amount of diluting fluid. From the second bottle, after prolonged agitation, measured quantities were quickly added to melted gelatine. After securing a careful admixture with the gelatine culture, plates were then poured in the usual manner. These plates were incubated at from 21 to 22° C, till all development had ceased. The colonies which had developed were then carefully counted over the entire surface of the culture plates, and the various colonies identified as to their species. Repeated sub-cultures in various media had often to be made to establish the identity of a species; but this work was rendered somewhat easier by the marked predominance of the *Bacillus acidilactici*.

The Guelph methods. $\frac{1}{2}$, or 1 g of cheese was taken and pulverized in a sterile mortar, with 10 g of powdered glass thoroughly sterilized; and 50 cc of sterilized warm water (37° C) was gradually added, with constant stirring, to make a fine emulsion. And we think that by taking cheese in considerable quantity from different parts of the interior of the plug and pulverizing the samples with sterilized powdered glass, using 10 g of powdered glass for each gram of cheese, more accurate results were obtained than could be secured by the methods followed in former investigations. When these larger amounts of cheese were used, the quantity of the diluting fluid had to be considerably increased, and the labor of preparing the samples was much greater; but undoubtedly the results obtained were more accurate and gave a more reliable estimate of the bacterial content of the cheese. For the larger number of the Guelph analyses, 1 g of cheese was used. In a few instances 5 g were used.

From the first dilution, 1 or 2 cc were transferred to a measured amount of sterile water in a sterilized flask. After thorough shaking, a measured quantity was again transferred to a measured amount of sterile water in another sterilized flask; and, after further shaking, various quantities of this 3rd dilution were added to the culture media. For transferring portions of the mixture from one dilution to another, straight-sided (Möhr) pipettes were used, and great care was taken to keep the liquid in the pipette in motion; for if not kept in motion, the particles in suspension would settle in a short time at the bottom of the pipette and thus interfere with the accuracy of the results. The amount of dilution varied with the age of the cheese from 750 000 to 100 000 parts of sterile water to one part of cheese. The plates were levelled on a nivellating apparatus, cooled with ice, and subsequently placed in a cool incubator at 20° C, where they remained till all development had ceased. The colonies were counted by means of a Jeffers counter; and computations were made therefrom.

v. Freudenreich's method of obtaining liquefying germs by making surface cultures from the last dilution was occasionally used.

As previous work upon the bacterial flora of cheese had failed

to show any obligate anaërobes, no anaërobic methods of culture were employed.

Bacteria found. The bacteria found in the cheese are divided into 4 classes:

A. True lactic acid bacteria, of which several varieties differing only in slight particulars were found. All were bacilli, usually arranged as diplo-bacilli, at times in short chains. The commonest species was undoubtedly the *B. acidilactici* (Esten).

B. Gas-forming bacteria. These were mainly varieties of the *B. coli communis* and the *B. lactis aërogenes*, although once or twice a species which in most particulars resembled *Proteus vulgaris* was isolated.

C. Indifferent bacteria. Various sarcinae, particularly *Sarcina lutea*, some yeasts, and tortulae were found. *B. subtilis* and one or two other casein digestors were isolated; but their action, on account of their small numbers, must be considered insignificant. Further, none of these latter species was constantly present; so their action may be regarded as having little or no influence in the curing of the cheese.

In this class one of us has included all bacteria, not lactic acid or gas-producing.

D. Digesting bacteria. By means of surface gelatine plates and emulsions of cheese, heated in order to destroy all vegetative forms and thus leave only spore-producing species, constant endeavour was made to isolate organisms belonging to this class.

In former analyses of Cheddar cheese, one of us found 7 different species of digesting or liquefying germs, the commonest form being *B. butyricus*. In this investigation, liquefying bacteria belonging to the subtilis group, *M. aureus lactis*, *M. varians lactis*, *B. fulvus* and *B. halofaciens* were isolated. Most of these species are liquefying, chromogenic forms. According to Conn, the second named is a distinctive dairy-type which he found very frequently in milk. We may add that it has been isolated from the milk-ducts; and, in this connection, may note Harding's opinion, that the enzymes from liquefying bacteria, isolated from the udder of cows, may have some influence in the ripening changes of Cheddar cheese. However, as already pointed out, none of these species are constantly present in cheese. Hence their action must be insignificant.

As may be seen from the appended tables, the lactic acid bacteria were the only constant bacteria present in very large numbers.

Commercial opinions on the Kingston cheese analysed. Commercial examinations of the same batches as those analysed were made at different dates. Part of the Kingston cheese was examined in Montreal in November, 1899, where the cheese had been held in cold-storage from the early part of September. Cheese of the non-regulated room, made on and after the 29th of July, were destroyed by fire on the way to Montreal; so no com-

A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. 643

parison can be drawn between the cheese of these days' make kept in regulated and in non-regulated curing-rooms.

Comments of the judges upon Kingston cheese made in 1899

Table I.

Date	Cheese in regulated room	Cheese in non-regulated room
June 22	Body texture and flavor better	Tender; on verge of going off
July 1	Better body and flavor, and more waxy	Not clean
" 7	Nearly alike; better body and slightly better cheese	Hardly clean; tender
" 13	Clean; waxy	Not quite clean; body tender
" 19	Good cheese	Pasty; not clean
" 29	Off flavor	Not reported owing to destruction in transit
Aug. 10	Good flavor	

Table II.

Commercial ratings of the Kingston cheese made in 1900.

Date	Room ¹⁾	Vat.	Body in order	Flavor of merit	Remarks
July 7	1	—	—	1	Best cheese of entire lot
" 6	1	—	—	2	Slightly fruity
" 5	1	—	—	3	Off flavor
" 7	2	—	—	4	Tallowy
" 6	2	—	—	5	Fruity flavor
" 5	2	—	—	6	Off flavor
" 19	1	1	1	1	Body about like cheese in room 1
" 19	1	3	2	2	Off flavor
" 19	2	1	3	3	No. 3, room 2, contains
" 19	2	3	4	4	slightly more moisture than No. 1, room 2
" 18	1	1	1	1	Less moisture; better flavor
" 18	1	3	2	2	Off flavor, more moisture
" 18	2	1	3	3	
" 18	2	3	4	4	Poorest of lot
					Cheese of July 19th equal to that of July 6th in flavor

Quality of the Guelph cheese. All these cheese were scored according to the following scale of points: flavor, 40; closeness, 15; even color, 15; texture, 20; finish, 10; total, 100. They were all scored 10 points for finish, in order to make the results more uniform. Six prominent cheese buyers of Montreal and four Ontario buyers did the scoring; and the following table shows the average of all the scorings made by months.

(See Table III p. 644.)

The first scoring of the cold-storage cheese, A, B, C and D in the table, was made when they were from 3 to 4 months old; and they were scored several times thereafter. The cheese ripened in the ordinary room. (E in the table) were scored the first time

1) No. 1 is the regulated room and No. 2 is the non-regulated room.

For the bacteriological data concerning these cheese, please refer to the same dates in the tables of analyses commencing at Table IV.

Table III.
Scorings of the Guelph cheese.

1)	Flavor Max. 40	Closeness Max. 15	Even color Max. 15	Texture Max. 20	Total Max. 100
April cheese	Av.	Av.	Av.	Av.	Av.
A	35,7	14,7	14,2	17,6	92,3
B	35,5	14,6	14,1	17,4	91,5
C	34,5	14,7	14,1	17,4	90,7
D	35,8	14,3	14,1	17,7	91,9
E	25,6	14,1	11,5	15,5	76,7
May cheese					
A	36,1	14,7	14,1	17,9	92,9
B	35,9	14,4	13,7	17,8	91,8
C	35,4	14,5	13,8	17,5	91,2
D	35,8	14,4	13,8	16,9	90,9
E	33,9	13,0	13,9	16,2	87,9
June cheese					
A	33,5	14,8	14,5	17,4	90,2
E	31,6	14,1	14,0	15,2	84,9

when they were from 6 weeks to 2 months old, and again at intervals of about one month after the first scoring, until it was considered that there would be no advantage in keeping them for a longer time.

Remarks on the analytical results.

A study of the tables of analysis (Table I to end) shows that each day's cheese differs in its quantitative bacterial content from the cheese of another day's make. This is not to be wondered at, when we remember, that each day's milk differs more or less from that of every other day and that little differences in handling are of daily occurrence. Such differences in the milk, in the handling of the curd, and in the use of various temperatures no doubt account for the differences in bacterial content. A perusal of the tables shows a very great difference in the initial number of the bacteria in cheese. The lowest number found in cheese under four days old was 110 750 000 per gram; and the highest number in cheese of the same age was 635 000 000 per gram.

It may be also noted that the bacterial content declines more rapidly in the cheese of some days' make than it does in others. This may also be due to different conditions, such as those already mentioned, and to the influence of the products of bacterial activity upon the living organisms.

The tables also show that the bacterial content of normal cheese is usually at its highest at the time of taking from the press or during the first few days after the cheese are placed in the curing room. In other words, the bacteria in cheese are the survivors of bacteria in the curd. This statement, however, does not always hold good; for we may have cheese in which the acidity

1) Same as in Table II.

has not developed to such an extent as is usually considered desirable; and in such a case there will likely be a period of bacterial development after the cheese is placed in the curing room. It has also been claimed that there is more likely to be bacterial development when the cheese are moister than usual; but, in our investigations, no difference was observed in the quantitative analysis of cheese coming from "moist" and from "ordinary" vats.

By the experimental data here given, the number of bacteria was shown to be at its maximum when the cheese were taken from the press; and following this period we had (taking into account the factors leading to error in analysis) a continuous and gradual decline in the bacterial content. This decline continued till about the 100th day, when the contents seemed to remain fairly stationary for some time. Following this period in which the bacterial content remained at a fairly constant level we had a gradual decline; but in some cheese a year old, from 10 000 to 500 000 lactic acid bacteria were found.

The decline was more gradual and the contents remained high for a longer period in the cheese kept in ice cold-storage at an average temperature of 40° than in cheese kept in an ordinary curing room. This statement, but in a lesser degree, is also true of cheese kept in cool or regulated rooms. Without exception we found a higher bacterial content in the cheese kept in the ice cold storage and in the regulated room, and also noted that there was better body and flavor in the cheese from these rooms than in those from the unregulated curing rooms. This factor of higher bacterial content must therefore be one of considerable importance, particularly as regards the flavor of the cheese. The proportion of lactic acid bacteria to undesirable organisms is much greater in cold-storage and cool-storage cheese than is usual under ordinary conditions; and this ratio remains constant for a greater length of time in the refrigerator cheese than in either of the others; and it is obvious that a cheese with the ratio of 97 lactic acid bacteria to 1 undesirable organism will be of better flavor than a cheese kept in an unregulated curing room with a ratio of 47 lactic acid bacteria to 1 undesirable one. These ratios will, in some of the cases, be given in the tables of analysis.

The lactic acid bacteria are practically the only organisms present in normal cheese, and certainly the only bacteria in each particle of it; so it must be the only microbe of importance in good cheese. It is true that gas-forming bacteria and other undesirable kinds were found in nearly every cheese we examined; but they were usually present in the samples taken at an early date, and very exceptionally in the later analyses. They seldom if ever increase in numbers.

The presence of the *Proteus* form in the cheese of July 29th, even though it did not increase in numbers, likely accounts for the cheese of that day going "off" in flavour. Such forms are favored by the warmer temperature of the variable room; but the large numbers of the lactic acid bacteria prevent their growth and

soon destroy most of them. Gas-forming bacteria do multiply and are found in large numbers in open cheese, and especially in cheese in which this taint develops early. This may be partly due to a lack of acid in the cheese, and partly to various other defects in the manufacture. Both *B. coli* and *B. lactis aërogenes* produce mottling. Conclusive evidence of this fact was obtained from a number of our experiments, made by using starters of these gas-producing organisms and manufacturing cheese therefrom. The mottles were most marked at the places where the particles of curd came together; holes and cracks also developed at these places; and it was evident that the gas-produced by these organisms, particularly the hydrogen, had a marked bleaching action upon the curd. We also found that the white particles produced by bleaching contained much larger numbers of the gas-producing organism than other portions of the cheese.

More detailed experiments upon this phase of the question will be given in a subsequent publication.

The lactic acid bacteria decline most rapidly in cheese kept in a room with a variable temperature; and when such decline takes place, any other bacterial species present is likely to multiply and produce its characteristic effects. This, perhaps, accounts for cheese going "off" in flavor when they become quite old; and such an undesirable result is much more likely to occur in cheese from a room of variable temperature than from cool or cold rooms, regulated by any of the methods adopted for the purpose. It may also be possible that abnormal flavors are produced by organisms which can grow only after a certain decomposition effected by a previous organism, the first furnishing a suitable food for the second. We do not yet know whether lactic acid bacteria render cheese suitable or unsuitable for the growth of any other species. The neutralization of the lime salts of the cheese by the generated lactic acid may at times bring about a condition suitable for the development of other bacteria which may be present in a dormant condition. The metabiotic phenomena in cheese certainly require further study.

As cheese become older, the lactic acid bacteria gradually lose their power of producing lactic acid when introduced into fresh milk. No morphological change can be detected in these bacteria. Colony formation on culture media remain quite characteristic. Lloyd has obtained similar results. He, however, thinks that lactic acid formation still goes on in the centre of the cheese; but, in our opinion, these bacteria are simply persisting forms of the contained bacteria. Reference to the tables shows that, on several occasions, we had an apparent increase of bacteria in cheese, several weeks old, kept at a temperature of 40° F; and we explain these results as due to the unequal distribution of bacteria in the cheese; for, by a number of experiments, we proved that there could be no increase of the lactic acid bacteria in milk kept at 40° F. Some of the experiments on this point may be referred to. On the 26th of November, 1902, 80 cc of sterilized milk was inoculated with a

2 oese of a 24 hour old bouillon culture of the lactic acid bacillus; and plates made from this mixture gave 430 colonies per oese. On the 3rd of December this milk, at a temperature of 40° F, was again examined and showed 150 colonies per oese; and at the same time, one drop of the milk was diluted in 12 cc of sterilized water and two colonies per cubiccentimeter of this mixture developed. On the 16th of December, the temperature being the same, 42 colonies per cubic centimeter and 2 colonies per oese respectively developed. The milk was then transferred to the incubator at 28° C, and coagulated in 24 hours. Other experiments with gas-producing germs had similar results, — there was no increase in the number of bacteria held at 40° F. This experiment was repeated with lactic acid bacteria and gas-producing bacteria, with similar results, viz., that there was no increase in the numbers of bacteria in milk held at 40° F. Consequently there could be no increase in the number of lactic acid and gas-producing bacteria in cheese held at this temperature.

Bacterial contents and ripening phenomena. The question of the really active agent or agents in the curing of cheese is still an open one. If bacteria are the active agents, then lactic acid bacteria must be the agents in the process. v. Freudenreich appears to have shown that these bacteria can produce an increase of the soluble nitrogenous products in the casein of milk, provided calcium carbonate is present. Klein and Kirsten stated that, by the use of starters, normal cheese can be made from pasteurized milk (which is free from enzymes); but Boekhout and Vries were unable to produce normal Edam cheese from aseptic milk with the addition of a culture of the lactic acid bacillus; and Chodat and Bang did not obtain an increase in the quantity of soluble nitrogen by growing lactic acid bacteria on coagulated casein; so, taking these facts into account, we are bound to admit that there still exists more or less doubt as to the ability of the lactic acid bacillus alone to produce an increase in the amount of soluble nitrogen.

Babcock and Russell attributed to galactase (an enzyme which they discovered in milk) the principal influence in the ripening of cheese; but v. Freudenreich has shown that 0,5 per cent of lactic acid enfeebls the action of galactase; and the very considerable amount of acid in normal Canadian cheddar cheese must still more diminish the action of this ferment, as the percentage of acidity or acid salts in ordinary cheese of this kind varies at different ages from 0,76 per cent. to 1,5 per cent.

Babcock and Russell (subsequent to the discovery of galactase) and Jensen simultaneously proved that the pepsin in rennet increased the higher decomposition products, such as albumoses and peptones, in cheese; and there is the well known fact that cheese-makers increase the amount of rennet when they want a fast-curing cheese.

Rennet acts more quickly and better than galactase in acid solutions; and it seems that the function of the lactic acid bacteria.

whose growth in milk is so carefully fostered by the cheese-maker, is to create the requisite acidity, in order that the pepsin of the rennet may exercise its digestive action on the cheese; and it appears certain that the fundamental curing changes commence during the maturing of the curd in the vat, but do not make themselves manifest till later.

Production of flavor. The most important characteristic of cheese is its flavor. Buyers of Cheddar cheese especially, judge very largely by the flavor; and no other characteristic counts for so much in estimating the market value. It is, therefore, necessary that the factors which contribute to the production of flavor should be thoroughly understood.

B. coli, *B. lactis aërogenes*, *Proteus*, etc., are sometimes present in milk and cheese and are to be guarded against on account of the abnormal flavors which they produce; and other species are occasionally found, but usually in such small numbers that they produce little or no effect upon the flavor of cheese; but from the analyses here presented, it is evident that the lactic acid bacillus is the only species of organism which is of much importance to cheese-makers. Generally speaking, the flavor of the cheese depends mainly upon this organism. When it is present in large numbers, and in what we practically term pure culture, we get the best flavor. It is only when the cheese breaks down under the influence of the enzymes in the rennet, after the ground has been prepared by the lactic acid bacteria, that flavor develops. The rapidity and character of the ripening process, involving the life of the lactic acid bacteria, largely depend upon the temperature at which the cheese is kept; and the most important factor in the control of temperature is a well-regulated cold or cool room.

The quality of the cheese in the Guelph experiments was in the order of placing in cold-storage as regards time — that put in directly from the hoops being the best; in the Kingston experiments, the cheese in the regulated room was superior to that in the ordinary non-regulated room; and in all these best cheese, the most noticeable fact was the high number of lactic acid bacteria which they contained and the length of time these organisms remained alive in them.

The similarity of germ content in the same kind of cheese, though made in various localities, has a bearing on the question; and we have found that in normal cheese from various parts of the province, the lactic acid bacillus is the only species that is constantly found in large numbers.

Conclusions.

1) In normal cheese, the greatest bacterial content is usually found when it is one day old, though occasionally it is at the maximum in cheese from 2 to 5 days old. At this period, the number of bacteria sometimes reaches the enormous total of 625 000 000 per gram.

2) Following this period, we have a gradual and continuous decline in the number of bacteria as the cheese get older.

3) The bacterial content remains high for the longest time, and the decline is most gradual in cheese kept in ice-cold storage, at an average temperature of 40° F. In cheese kept in a cool, well-regulated room, similar results occur, but the decline in the number of bacteria is more rapid. As this higher bacterial content constantly corresponds with a better flavor in the cheese, we infer that it is the chief factor in determining the flavor of cheese properly made from good, pure milk.

4) Lactic acid bacilli are practically the only bacteria in normal cheese during the ripening process; and throughout the process, the gradually and constantly decline in number. As the curing changes are manifested only after the lapse of some time, these changes must be influenced by the products of the early activity of the bacteria; and we believe that the fundamental curing changes begin and continue during the ripening of the curd in the vat, but do not make themselves manifest till later.

5) The lactic acid bacteria in cheese, not only decrease in number with the lapse of time, but gradually lose their acid-producing power; and this circumstance with the fact that the most rapid decline in the number of these bacilli takes place in cheese in the ordinary curing-room, gives rise to a condition which is favorable to the development of any taint-producing species which may be present. Hence the cheese from a cold-storage or a well-regulated cool room ought to keep better than cheese from the ordinary curing-room.

6) The flavor of cheese depends mainly on the breaking down of the casein under the influence of the curing agent (likely the pepsin of the rennet), aided by the acidity and other conditions produced by the growth of the lactic acid bacilli, while the most important factor in the control of these conditions is the temperature, — a regular and cold or cool temperature being necessary for the best results.

7) As may be seen from the conclusions and remarks of the judges of the cheese analysed, cheese kept in cold-storage at about 40° F, and also those kept in a well-regulated cool room, were better in flavor and body and of much greater commercial value than cheese kept in the ordinary curing-room with its variable and generally too high temperature.

8) In nearly all the cheese examined, gas-producing, digesting, or indifferent species of bacteria were found; but they always were in insignificant numbers and soon died out.

9) Undesirable bacteria such as are found in cheese seem unable to grow at a temperature of 40° F. Consequently the flavors in cheese caused by the growth of bacteria therein do not increase in cold-storage.

10) The presence of certain undesirable bacteria sometimes produces "off" flavors in cheese. The *Proteus* form found in the cheese of July 29th was likely the cause of the cheese of that date being abnormal in flavor.

Table IV.
(Kingston) Cheese. June 22nd, 1899.

Date	Age	Kept in regulated room			Temperature			Kept in ordinary room			Temperature		
		Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max.	Av.	Min.	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max.	Av.	Min.
June 24	2	628 750 000	(a) 800 000	(b) 300 000	65	62.5	61	628 750 000	(a) 800 000	(b) 300 000	74	67	61
July 4	12	106 560 000	—	—	65	61.1	56	78 937 000	—	—	78	68.5	58
" 18	26	98 750 000	—	—	64	61.5	58	63 125 000	—	(c) 40 000	79	71.6	60
Aug. 22	61	15 000 000	—	—	65	62.5	56	4 500 000	—	—	81	69.1	56
Sept. 5	75	11 200 000	—	—	67	63.2	60	1 042 000	—	—	78	70.5	62
" 18	88	1 400 000	—	—	62	56	49	—	—	—	—	—	—
" 25	95	2 430 000	—	—	65	59	51	—	—	—	—	—	—
Oct. 3	103	1 715 000	—	—	63	54	44	—	—	—	—	—	—
" 16	116	1 650 000	—	—	64	55	45	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	152	415 000	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*.(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*. (c) White yeast.

(Kingston) Cheese. July 1st, 1899.

July 4	3	461 500 000	(a) 2 500 000	—	63	62	61	454 000 000	(a) 1 750 000	—	78	71.3	62
" 11	10	148 120 000	—	(b) 1 500 000	64	61.7	58	128 600 000	—	(b) 1 600 000	79	72.3	62
" 25	24	115 000 000	(a) 570 000	—	63	61	57	44 875 000	—	—	77	68.3	55
Aug. 1	31	78 315 000	—	—	64	62	58	49 300 000	(a) 400 000	(c) 200 000	80	73	58
" 15	45	43 386 000	—	(c) 115 300	65	61.8	56	16 750 000	—	—	79	68.5	56
" 30	60	—	—	—	67	62.5	57	6 375 000	(a) 75 000	—	81	70.3	58
Sept. 18	79	11 020 000	—	—	66	58	54	—	—	—	—	—	—
" 25	86	6 750 000	—	—	65	59	51	—	—	—	—	—	—
Oct. 3	94	15 400 000	(a) 40 000	—	63	54	44	—	—	—	—	—	—
" 14	107	11 300 000	—	—	64	55	45	—	—	—	—	—	—
" 30	121	5 800 000	—	—	65	55	50	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	145	2 030 000	—	(d) 10 000	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*. (c) Partly *S. lutea* and (d) White yeast.(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*. (c) White yeast.

(Kingston) Cheese. July 7th, 1899.

July 11	4	146 322 000	(a) 68 000	(b) 504 000	62	61	58	110 750 000	(a) 100 000	(b) 375 000	79	70.6	62
" 18	11	48 250 000	—	(b) 100 000	63	61.3	58	51 460 000	—	(c) 50 000	77	70.3	60
" 25	18	21 625 000	—	—	63	60.5	57	—	—	—	—	—	—
Aug. 1	25	24 850 000	—	—	64	62	58	10 250 000	—	(d) 90 000	80	69.1	55
" 22	46	9 850 000	—	—	65	62	56	5 600 000	—	—	81	69	56
Sept. 20	75	460 000	—	(c) 4 000	66	60	49	—	—	—	—	—	—
Oct. 16	102	527 500	—	(d) 5 000	64	55	44	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	140	525 000	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *B. coli*. (b) *B. subtilis*. (c) *S. lutea*. (d) *Torula (rosea)*.(a) *B. coli*. (b) *B. subtilis*. (c) *Micrococcus alba*. (d) Orange *Micrococcus*.

(Kingston) Cheese. July 13th, 1899.

July 18	5	385 000 000	—	—	63	61.5	58	30 865 400	(a) 260 000	—	77	70.3	60
" 25	12	—	—	—	63	60.5	57	27 083 000	—	(b) 100 000	74	66	55
Aug. 1	19	39 353 000	(a) 150 000	(b) 80 000	64	62	58	19 440 000	—	—	80	73	58
" 15	33	22 040 000	(a) 150 000	—	65	61.8	56	22 937 500	—	—	79	68.5	56
" 29	47	—	—	—	67	62.5	57	5 000 000	(a) 40 000	—	81	70.3	58
Sept. 18	67	2 510 000	—	—	66	58	54	—	—	—	—	—	—
" 25	74	2 880 000	(a) 2 000	—	65	59	51	—	—	—	—	—	—
Oct. 3	82	6 070 000	—	(c) 4 000	63	54	44	—	—	—	—	—	—
" 16	95	3 256 000	—	—	64	55	45	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	133	585 000	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*. (c) Partly *S. lutea* and a pink yeast.(a) *B. coli*. (b) *Sarcina lutea*.

A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. 651

(Kingston) Cheese. July 19th, 1899.

Date	Age	Kept in regulated room			Tem- perature			Kept in ordinary room			Tem- perature		
		Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max	Av	Min.	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max	Av	Min.
July 25	6	158 150 000	—	(b) 1 000 000	63	60.5	57	108 555 000	(a) 700 000	—	74	66	55
Aug. 1	13	41 300 000	(a) 200 000	—	64	62	58	89 777 000	(a) 120 000	—	80	73	58
" 15	27	89 066 000	—	(b) 200 000	65	61.8	56	61 500 000	—	(b) 100 000	79	68.5	56
" 22	34	86 600 000	—	—	64	62	57	53 000 000	—	(b) 20 000	81	70	58
" 29	41	42 800 000	—	(b) 20 000	67	63.2	60	23 100 000	—	—	78	70.5	62
Sept. 20	63	7 500 000	—	—	66	58	54	—	—	—	—	—	—
Oct. 3	76	15 116 000	—	(b) 40 000	65	55	44	—	—	—	—	—	—
" 30	193	5 091 000	—	(b) 10 000	64	54	44	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	127	1 170 000	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *B. coli*. (b) A small bacillus producing a yellow colony — non liquefying etc. species not determined, is not active in milk.

(a) *B. coli*. (b) Same bacillus as found in cheese from regulated room.

(Kingston) Cheese. July 29th, 1899.

Aug. 1	3	348 400 000	(a) 2 000 000	—	63	61.1	58	453 333 000	(a) 1 000 000	—	80	70.3	58
" 15	17	231 800 000	(a) 1 000 000	—	65	61.8	56	193 500 000	—	—	79	68.5	56
" 22	24	152 614 000	—	—	64	62	57	—	—	—	81	70	58
" 29	31	145 000 000	—	—	67	63.2	60	103 000 000	—	—	78	70.5	62
Sept. 16	49	41 000 000	—	—	66	58	54	—	—	—	—	—	—
Oct. 2	65	10 000 000	—	—	65	55	44	—	—	—	—	—	—
" 16	79	9 750 000	—	—	64	55	45	—	—	—	—	—	—
" 30	93	10 890 000	—	—	65	55	50	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	117	3 520 000	—	—	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *Bacillus* related to *Proteus* group.

(a) *Bacillus* related to *Proteus* group.

(Kingston) Cheese. August 10th, 1899.

Aug. 25	5	536 400 000	(a) 100 000	—	65	62.4	56	323 250 000	(a) 200 000	—	79	68.6	56
" 22	12	—	—	—	64	62	57	206 400 000	—	—	81	70	58
" 29	19	125 000 000	—	(b) 400 000	67	63.2	60	122 300 000	—	(b) 200 000	78	70.5	62
Sept. 20	41	14 148 000	—	—	66	58	54	—	—	—	—	—	—
Okt. 2	53	22 200 000	—	—	65	55	44	—	—	—	—	—	—
" 30	81	10 935 000	—	—	64	54	44	—	—	—	—	—	—
Nov. 23	105	2 780 000	—	(b) 50 000	—	50	—	—	—	—	—	—	—

(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*.

(a) *B. coli*. (b) *S. lutea*.

(Kingston) Cheese. July 5th, 1900.

July 11	6	387 500 000	—	1 000 000	64	62	60	202 135 000	—	(a) 500 000	82	70	61
" 20	15	121 500 000	—	(a) 640 000	64	62.5	60	73 750 000	—	(a) 250 000	83	72	62
" 26	21	56 100 000	—	(b) 300 000	65	62.5	59	29 800 000	—	(b) 75 000	82	74	68
Aug. 1	27	36 100 000	—	(a) 500 000	65	62.5	59	19 800 000	—	(a) 350 000	79	71	60
" 8	34	32 755 000	—	(c) 10 000	64	62.5	59	11 430 000	—	(b) 200 000	78	68	58
" 13	39	23 071 600	—	—	64	61	59	6 630 000	—	(a) 15 000	83	74	62
" 20	46	16 135 000	—	(c) 10 000	65	62.5	59	4 812 500	—	(b) 15 000	81	73	64
Sept. 4	61	4 935 000	—	—	66	62	58	3 500 000	—	—	82	80	60
			—	(b) 90 000	65	61	56	—	—	(a) 108 000	—	—	—

(Kingston) Cheese, July 6th, 1900.

Date	Age	Kept in regulated room			Temperature			Kept in ordinary room			Temperature
		Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max.	Av.	Min.	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	
July 11	5	300 000 000	2 600 000	—	64	62	60	181 800 000	1 200 000	—	82.70
" 20	14	164 166 000	1 200 000	(a) 240 000	64	62.5	60	70 568 000	240 000	(a) 60 000	83.72
" 26	20	144 762 000	100 000	(b) 240 000	65	62.5	59	78 154 000	408 000	(c) 200 000	82.74
Aug. 1	26	84 300 000	—	(a) 400 000	64	62.5	59	36 250 000	—	—	79.71
" 8	33	68 520 000	—	(a) 125 000	64	61	59	33 127 500	—	(d) 20 000	78.68
" 13	38	40 365 000	—	(a) 125 000	65	62.5	59	15 400 000	—	(e) 10 000	83.74
" 20	45	22 105 000	—	(c) 125 000	66	62	58	2 380 000	—	(e) 5 000	81.73
" 27	52	4 520 000	—	(a) 220 000	65	62	59	1 100 000	—	—	82.70

(a) *A bacillus*, non liquefier producing a light yellow pigment. (b) *B. Fluorescens liquifaciens*. (c) *Torula alba*. (d) *Megatherium*. (e) *A liquefying streptococcus*.

(Kingston) Cheese, July 1, 1900.

July 26	7	344 950 000	—	—	65	62.5	59	382 750 000	—	—	82.70
Aug. 1	13	90 450 000	—	—	64	62.5	59	228 365 000	—	—	79.71
" 8	20	110 625 000	—	—	64	61	59	73 145 000	—	—	78.68
" 13	25	125 000 000	—	—	65	62.5	59	22 550 000	—	—	83.74
" 20	32	57 500 000	—	—	66	62	58	11 775 000	—	—	81.73
Sept. 1	43	18 057 142	—	—	65	61	58	3 750 000	—	—	82.70

(Kingston) Cheese, July 7th, 1900.

July 11	4	242 200 000	—	—	64	62	60	236 250 000	—	—	82.70
" 20	13	197 500 000	—	(a) 1 360 000	64	62.5	60	64 881 000	—	(a) 900 000	83.72
" 26	19	66 364 000	—	(b) 112 000	65	62.5	59	52 600 000	—	(b) 200 000	82.74
Aug. 1	25	69 560 000	160 000	(a) 360 000	64	62.5	59	21 400 000	—	(a) 200 000	79.71
" 8	32	70 300 000	—	(a) 320 000	64	61	59	9 600 000	—	(b) 200 000	78.68
" 13	37	42 500 000	—	50 000	65	62.5	59	5 700 000	—	(a) 100 000	83.74
" 20	44	41 700 000	—	(e) 30 000	66	62	58	4 942 000	—	50 000	81.73
Sept. 4	59	11 827 000	—	(e) 25 000	65	61	56	2 200 000	—	(a) 20 000	82.70

(Kingston) Cheese, July 18th, 1900. Vat I.

July 26	8	337 750 000	*—	—	65	62.5	59	167 917 000	*—	—	82.70
Aug. 1	14	244 800 000	—	—	64	62.5	59	115 200 000	—	—	79.71
" 8	21	—	—	—	64	61	59	101 800 000	—	—	78.68
" 13	26	107 400 000	—	—	65	62.5	59	45 333 000	—	—	83.74
" 20	33	62 000 000	—	—	66	62	58	17 752 000	—	—	81.73
Sept. 4	48	14 226 000	—	—	65	61	56	4 225 000	—	—	82.70

* The bacteria apart from the lactic acid bacteria were not calculated. The letters signify the same as above.

(Kingston) Cheese July 18th, 1900. Vat 3.

July 26	8	161 430 000	—	—	65	62.5	59	344 375 000	—	—	82.70
Aug. 1	14	—	—	—	65	62.5	59	210 000 000	—	—	79.71
" 8	21	331 250 000	—	—	64	61	59	62 000 000	—	—	78.68
" 13	26	173 000 000	—	—	65	62.5	59	48 420 000	—	—	83.74
" 20	33	92 300 000	—	—	66	62	58	—	—	—	81.73
Sept. 4	48	40 950 000	—	—	65	61	56	12 420 000	—	—	82.70

A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. 653

(Kingston) Cheese. July 19th, 1900. Vat I.

Age	Kept in regulated room			Temperature			Kept in ordinary room			Temperature		
	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max.	Av.	Min.	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Indifferent	Max.	Av.	Min.
26 7	331 666 000	—	—	65	62,5	59	290 000 000	—	—	82	74	68
1 13	198 000 000	—	—	64	62,5	59	226 000 000	—	—	79	71	60
8 20	89 773 000	—	—	64	61,0	59	156 750 000	—	—	78	68	58
13 25	35 000 000	—	—	65	62,5	59	26 563 500	—	—	83	74	62
20 32	69 000 000	—	—	66	62,0	58	7 725 000	—	—	81	73	64
1 43	17 520 000	—	—	65	61,0	58	2 781 000	—	—	82	70	60

(Guelph) Cheese of April 26th A. Refrigerator.

Date	Age	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Digestors	Indifferent	Temperature		
						Max.	Av.	Min.
April 26	1	543 000 000	—	—	—	38	36,5	35
May 13	17	566 000 000	—	—	130 000 ¹⁾	38	37	36
" 21	25	547 650 000	—	—	238 000	38	37	36
" 28	32	448 700 000	—	—	270 000	38	37	38
June 6	41	504 300 000	—	—	120 000	39	38	37
" 13	48	477 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 22	57	155 500 000	—	—	—	42	40	38
July 16	81	44 500 000	—	—	—	42	40,5	39
Aug. 5	101	44 250 000	—	—	—	42	40	38

(Guelph) Cheese of April 26th B. One week in ordinary curing room, then into Refrigerator

April 26	1	543 000 000	—	—	—	65	60	55
May 6	10	390 000 000	—	2 000 000 ²⁾	—	65	60	55
" 28	32	123 800 000	—	400 000 ²⁾	—	38	38	38
June 6	41	166 800 000	—	—	—	39	38	37
" 13	48	117 300 000	—	—	—	40	38,5	37
" 22	57	27 200 000	—	—	—	42	40	38

(Guelph) Cheese of April 26th C. Two weeks in ordinary curing room, then into Refrigerator.

April 26	1	543 000 000	—	—	—	65	60	55
May 11	16	146 500 000	—	310 000 ³⁾	—	65	60	55
" 28	32	123 700 000	—	70 000 ³⁾	—	38	38	38
June 6	41	124 200 000	—	—	—	39	38	37
" 13	48	74 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 22	57	32 000 000	—	—	—	42	40	33

(Guelph) Cheese of April 26th E. Ordinary curing room.

April 26	1	543 000 000	—	—	—	65	60	55
May 28	32	122 000 000	—	400 000 ⁴⁾	—	70	63	65
June 6	41	28 250 000	—	105 000	—	70	66	62
" 13	48	26 000 000	—	72 000	—	73	64	58
" 22	57	9 234 000	—	—	—	74	67	58
July 16	81	3 430 000	—	—	—	80	75	68

1) Identity not established.

2) B. subtilis-group.

3) B. subtilis-group.

4) B. subtilis-group.

(Guelph) Cheese of April 29th A. Refrigerator.

Date	Age	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Digestors	Indifferent	Temperature		
						Max.	Av.	Min.
May 2	3	486 000 000	582 000 ¹⁾	194 000 ²⁾	1 500 000	38	37,5	37
" 21	22	541 000 000	210 000 ¹⁾	—	630 000	38	37	36
" 28	29	519 000 000	—	—	—	38	38	38
June 6	38	482 000 000	—	—	182 000	39	38	37
" 12	44	310 000 000	—	91 000 ²⁾	—	40	38,5	37
" 22	54	261 000 000	—	—	—	42	40	38
July 16	78	73 800 000	—	—	—	42	40,5	39
Aug. 7	100	42 300 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of April 29th B. One week in ordinary curing room, then into Refrigerator.

May 2	3	486 000 000	582 000 ¹⁾	194 000 ²⁾	1 500 000	65	60	55
" 7	8	169 000 000	—	132 000 ²⁾	760 000	65	60	55
" 28	29	138 000 000	—	—	186 200	38	38	38
June 6	38	106 800 000	—	—	—	39	38	37
" 13	45	93 800 000	—	126 000 ²⁾	—	40	38,5	37
" 22	54	88 150 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of April 29th C. Two weeks in ordinary curing room and then into Refrigerator.

May 2	3	486 000 000	582 000 ²⁾	194 000 ¹⁾	1 500 000	65	60	55
" 14	15	117 600 000	—	—	—	66	62	55
" 28	29	77 700 000	—	—	—	38	38	38
June 6	38	75 500 000	—	—	—	39	38	37
" 13	45	57 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 22	54	54 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of April 29th D. 3 weeks in ordinary curing room and then into Refrigerator.

May 2	3	486 000 000	582 000 ²⁾	194 000 ²⁾	1 500 000	65	60	55
" 21	22	129 000 000	—	—	—	70	63	55
" 28	29	120 100 000	—	—	—	38	38	38
June 6	38	119 600 000	—	—	—	39	38	37
" 13	45	35 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 22	54	30 500 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of April 29th E. Ordinary curing room.

May 2	3	486 000 000	582 000 ²⁾	194 000 ²⁾	1 500 000	65	60	55
June 6	38	45 000 000	119 000 ²⁾	—	—	70	66	62
" 13	45	39 700 000	—	—	—	73	64	58
" 22	54	5 300 000	—	—	—	74	67	58
July 16	78	2 750 000	—	—	—	80	75	68

(Guelph) Cheese of May 6th A. Refrigerator.

May 6	1	523 000 000	1 000 000 ²⁾	—	500 000	39	37	37
" 21	15	489 000 000	500 000 ²⁾	—	—	38	37	36
" 29	23	482 000 000	—	—	—	38	38	38
June 4	29	475 000 000	—	—	—	39	38	37
" 19	44	397 000 000	—	—	—	42	40	38
" 29	54	471 000 000	—	—	—	42	40	38
July 16	71	473 000 000	—	—	—	42	40,5	39
Aug. 7	93	437 000 000	—	—	—	42	40	38

1) Partly *M. aureus lactis*.2) *B. lactis aërogenes*.3) *M. aureus lactis*.

A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. 655

(Guelph) Cheese of May 6th B. One week in ordinary curing room and then into Refrigerator.

Date	Age	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Digestors	Indifferent	Temperature		
						Max.	Av.	Min.
May 6	1	523 000 000	1 000 000 ¹⁾	—	500 000	64	60	56
" 14	8	263 000 000	750 000 ¹⁾	—	—	65	60	55
" 29	23	274 000 000	—	—	—	38	38	38
June 4	29	255 100 000	—	—	—	39	38	37
" 13	37	200 200 000	—	—	—	40	38,5	37
" 20	45	118 000 000	—	—	—	42	40	38
" 29	54	110 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 6th C. Two weeks in ordinary curing room and then into Refrigerator.

May 6	1	523 000 000	1 000 000 ¹⁾	—	500 000	64	60	56
" 21	15	145 000 000	—	—	—	70	63	55
" 29	23	152 000 000	—	—	—	38	38	38
June 4	29	141 500 000	—	—	—	39	38	37
" 12	37	128 700 000	—	—	—	40	38,5	37
" 29	54	109 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 6th D. 3 weeks in ordinary curing room and then into Refrigerator.

May 6	1	523 000 000	1 000 000 ¹⁾	—	500 000	64	60	56
" 14	8	263 000 000	750 000 ¹⁾	—	—	65	60	55
" 21	15	145 000 000	—	—	—	70	63	55
" 29	23	195 000 000	—	—	—	69	64	58
June 4	29	161 000 000	—	—	—	39	38	37
" 12	37	102 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 20	45	104 500 000	—	—	—	42	40	38
" 29	54	72 500 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 6th E. Ordinary curing room.

May 6	1	523 000 000	1 000 000 ¹⁾	—	500 000	64	60	56
" 14	8	263 000 000	750 000	—	—	65	60	55
" 21	15	145 000 000	560 000	—	—	70	63	55
" 29	23	—	—	—	—	69	64	58
June 4	29	97 000 000	—	—	—	70	66	62
" 12	37	82 600 000	—	—	—	73	64	58
" 20	45	37 000 000	—	—	—	74	67	58
" 29	54	12 000 000	—	—	—	68	64	57
July 16	71	4 100 000	—	—	—	80	65	68

(Guelph) Cheese of May 13th A. Refrigerator.

May 13	1	623 000 000	1 200 000 ¹⁾	2 400 000 ²⁾	1 200 000	38	37	36
" 21	8	612 000 000	800 000	1 600 000	—	38	37	36
" 29	16	615 000 000	—	710 000	—	38	38	38
June 6	24	596 000 000	450 000	900 000	—	39	38	37
" 12	30	561 500 000	—	—	—	40	38,5	37
" 21	39	461 000 000	—	—	—	42	40	38
" 24	42	360 000 000	—	—	—	42	40	38
July 16	64	431 000 000	—	—	—	42	40,5	39
Aug. 7	86	358 000 000	—	—	—	42	40	38

1) *B. lactis aërogenes*.

2) *M. varians lactis* and *B. subtilis*.

(Guelph) Cheese of May 13th B. One week in ordinary curing room and then into Refrigerator.

Date	Age	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Digestors	Indifferent	Temperature		
						Max.	Av.	Min.
May 13	1	623 000 000	1 200 000 ¹⁾	2 400 000 ²⁾	1 200 000	65	60	55
" 21	8	290 000 000	400 000	800 000	800 000	70	63	55
" 29	16	162 000 000	—	—	—	38	38	38
June 5	23	135 000 000	270 000	—	—	39	38	37
" 12	30	147 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 21	39	209 000 000	—	—	—	42	40	38
" 28	46	171 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 13th C. Two weeks in ordinary curing room and then into Refrigerator.

May 13	1	623 000 000	1 200 000 ¹⁾	2 400 000 ²⁾	1 200 000	65	60	55
" 21	8	290 000 000	400 000	800 000	800 000	70	63	55
" 29	16	229 000 000	—	220 000	—	69	64	58
June 5	23	155 000 000	175 000	—	—	39	38	37
" 12	30	162 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 21	39	137 000 000	—	—	—	42	40	38
" 28	46	133 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 13th D. Three weeks in ordinary curing room and then into Refrigerator.

May 13	1	623 000 000	1 200 000 ¹⁾	2 400 000 ²⁾	1 200 000	65	60	55
" 21	8	290 000 000	400 000	800 000	800 000	70	63	55
" 29	16	229 000 000	—	220 000	—	69	64	58
June 4	22	94 000 000	145 000	—	—	70	66	62
" 12	30	104 000 000	—	—	—	40	38,5	37
" 21	39	106 000 000	—	—	—	42	40	38
" 28	46	87 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 13th E. In ordinary curing room.

May 13	1	623 000 000	1 200 000 ¹⁾	2 400 000 ²⁾	1 200 000	65	60	55
" 21	8	290 000 000	400 000	800 000	800 000	70	63	55
" 29	16	229 000 000	—	220 000	—	69	64	58
June 4	22	154 000 000	175 000	—	—	70	66	52
" 11	29	90 000 000	90 000	—	—	73	64	58
" 21	39	86 000 000	—	—	—	74	67	58
" 29	47	24 000 000	—	—	—	68	64	57
July 16	64	17 000 000	—	—	—	80	75	68

(Guelph) Cheese of May 20th A. Refrigerator.

May 20	1	500 000 000	1 000 000 ¹⁾	95 000 ⁴⁾	—	38	37	36
" 28	8	473 000 000	—	—	—	38	38	38
June 4	15	490 000 000	—	—	—	39	38	37
" 11	22	446 000 000	125 000	—	—	40	38,5	37
" 18	29	496 000 000	—	—	—	42	40	38
" 27	38	491 000 000	—	—	—	42	40	38
July 18	59	445 000 000	—	—	—	42	40,5	39
Aug. 7	79	431 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 20th B.

May 20	1	500 000 000	1 000 000 ¹⁾	95 000	—	70	63	55
" 28	8	456 000 000	620 000	310 000 ⁵⁾	—	69	64	58
June 4	15	455 000 000	—	—	—	39	38	37
" 11	22	350 000 000	123 000	—	—	40	38,5	37
" 18	29	378 000 000	—	—	—	42	40	38
" 28	39	296 000 000	—	—	—	42	40	38

1) *B. lactis aërogenes*. 2) *M. varians lactis*. 3) *B. coli* and *B. lactis aërogenes*. 4) *B. fulvus*. 5) *B. fulvus* and *M. varians lactis*.

A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. 657

(Guelph) Cheese of May 20 th C.

Date	Age	Lactic Acid Bact.	Gas formers	Digestors	Indifferent	Temperature		
						Max.	Av.	Min.
May 20	1	500 000 000	1 000 000 ¹⁾	95 000 ²⁾	—	70	63	55
" 28	8	456 000 000	620 000	310 000 ³⁾	—	69	64	58
June 4	15	320 000 000	200 000	—	—	70	66	62
" 11	22	313 000 000	—	—	—	40	38.5	37
" 19	30	289 000 000	—	—	—	42	40	38
" 29	40	216 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 20 th D.

May 20	1	500 000 000	1 000 000 ¹⁾	95 000 ²⁾	—	70	63	55
" 28	8	456 000 000	620 000	310 000	—	69	64	58
June 4	15	320 000 000	200 000	—	—	70	66	62
" 11	22	172 000 000	—	—	—	73	64	58
" 19	30	139 000 000	—	—	—	42	40	38
" 29	40	116 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 20 th E.

May 20	1	500 000 000	1 000 000 ¹⁾	95 000 ²⁾	—	70	63	55
" 28	8	337 000 000	—	—	—	69	64	58
June 18	29	123 000 000	210 000	—	—	74	67	58
" 29	40	41 000 000	—	82 000 ⁴⁾	—	68	64	57
July 9	50	3 000 000	—	—	—	80	74	68

(Guelph) Cheese of May 27 th A.

May 27	1	635 000 000	—	—	—	38	38	38
June 4	8	520 000 000	—	—	—	39	38	37
" 11	15	475 000 000	—	—	—	40	38.5	37
" 18	22	477 000 000	—	—	—	42	40	38
" 25	29	494 000 000	—	—	—	42	40	38
July 15	52	253 000 000	—	—	—	42	40.5	39
Aug. 7	72	255 000 000	—	—	—	42	40	38

Cheese of May 27 th E.

May 27	1	635 000 000	—	—	—	69	64	58
June 4	8	273 000 000	—	—	—	70	66	62
" 11	15	264 000 000	—	—	—	73	64	58
" 25	29	175 000 000	—	—	—	74	67	58
Aug. 7	72	32 000 000	—	—	—	71	67	62

(Guelph) Cheese of June 3rd A.

June 3	1	584 000 000	7 000 000 ¹⁾	800 000 ²⁾	—	39	38	37
" 11	8	494 000 000	2 000 000	—	—	40	38.5	37
" 18	15	366 000 000	420 000	—	—	42	40	38
" 24	21	308 000 000	114 000	—	—	42	40	38
July 15	45	302 000 000	—	—	—	42	40.5	39

Cheese of June 3rd E.

June 3	1	584 000 000	7 000 000 ¹⁾	800 000 ²⁾	—	70	66	62
" 11	8	341 000 000	1 630 000	—	—	73	64	58
" 18	15	291 000 000	1 212 000	—	—	74	67	58
" 24	21	209 000 000	80 000	—	—	74	67	58
July 15	45	161 000 000	523 000	—	—	80	75	68
" 25	55	87 000 000	—	—	—	77	69	61
Aug. 9	70	4 200 000	—	—	—	71	67	62

¹⁾ B. coli and B. lactis aerogenes. ²⁾ B. fulvus. ³⁾ B. fulvus and M. varians lactis. ⁴⁾ M. varians lactis. ⁵⁾ B. subtilis, B. halofaciens.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Organismus der *Bombyx mori* (L.) und der *Periplaneta orientalis* (L.) bei artifizierter Infektion derselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von Frau **E. D. Filatoff.**

Mit 3 Kurven.

Mein Versuchsmaterial über künstliche Infektion von Küchenschaben und Seidenraupen teile ich in zwei Kategorien. Zur ersten zähle ich alle Versuche, welche darauf ausgingen, bloß zu konstatieren, ob das betreffende Bakterium für Insekten pathogen sei oder nicht; die zweite umfaßt sämtliche Versuche, welche das Schicksal der pathogenen und nicht pathogenen Bakterien im Insektenleibe ins klare bringen.

Der Literaturauszug über die Frage der Beziehungen von Bakterien und Insekten zueinander besteht ebenfalls aus zwei Teilen. Der erste umfaßt die Ergebnisse der Forschungen über Insektenkrankheiten, welche bei natürlichen Lebensbedingungen derselben entstehen, sowie sämtliche Arbeiten über künstliche bakterielle Infektion von Insekten behufs Erzeugung der einen oder anderen Krankheit; der zweite Teil enthält alle Arbeiten, welche die Frage des Schicksals der in den Insektenleib eingedrungenen Bakterien behandeln.

I.

Indem nun auf den ersten Teil meiner Arbeit übergehe, will ich eine Literaturübersicht bezüglich der Forschungen über bei natürlichen Lebensbedingungen entstehende Insektenkrankheiten, und danach über künstliche bakterielle Infektion von Insekten vorausschicken.

Eine der am besten erforschten Insektenkrankheiten ist die Schlaffsucht der Seidenraupe. Diese Krankheit herrschte in den Seidenraupenzüchtereien besonders zu Ende der sechziger Jahre, infolgedessen sie die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich lenkte.

Die Schlaffsucht tritt gewöhnlich nahe der Verpuppungszeit nach der vierten Häutung auf; die kranken Raupen erschlaffen, fressen schlecht oder nehmen gar keine Nahrung zu sich, ihr Leib wird weich, dunkelfarbig, aus der Analöffnung entleeren sich übelriechende Exkremente, endlich geht die Raupe zu Grunde. Bald nach Eintritt des Todes (bisweilen auch vorher) wird der Leib kohlschwarz und bekommt das Aussehen eines mit Gasen und dunkelbrauner, stinkender, Myriaden von Bakterien enthaltender Flüssigkeit gefüllten Schlauches. Diese Seuche entsteht meistens plötzlich und trifft die ganze Bevölkerung der Seidenraupenzüchtereien. Die inneren Veränderungen, welche im Leibe der kranken Raupen sich entwickeln, sind folgende: Die Menge der roten Blutkörperchen nimmt ab, das Herz pulsiert langsamer, die Malpighi-

schen Gefäße verlieren infolge von Ueberfüllung mit oxalsaurem Kalk ihre Durchsichtigkeit, die Darmwände schwellen an und werden trübe, der Magensaft wird dichter und mehr schleimig als gewöhnlich, seine Reaktion wird weniger alkalisch als in der Norm, das im Darm sich befindliche Blatt beginnt in Gärung überzugehen und verfällt der Fäulnis.

Die meisten Forscher, welche sich mit der Schlaffsucht der Seidenraupe beschäftigten, fanden stets im Darm und in den Organen eine Unmenge von Bakterien, und sie alle stimmen darin überein, daß von Bakterien im Leibe kranker und toter Raupen sich immer 2 Arten vorfinden, eine, in Gestalt eines Micrococcus, die andere als Stäbchen, wobei die erstere Art als eigentlicher Krankheitserreger, das Stäbchen aber wahrscheinlich nur als Begleiter zu betrachten ist, als saprophytisches Bakterium, welches in dem schon geschwächten Organismus einen Fäulnisprozeß insceniert. Nur Pasteur (1) allein hat die Vermutung ausgesprochen, daß es sich um 2 Formen ein und desselben Mikroorganismus handelt. Der Micrococcus ist zuerst von Leidig (2) entdeckt worden. Beschamp (3) und Pasteur gaben ihm den Namen *Micrococcus sive Streptococcus bombycis*. Er erscheint als Coccus von bis zu $1,5\mu$ Durchmesser, liegt gepaart, mitunter bildet er auch Ketten.

Alle diese drei Forscher, Pasteur, Leidig und Beschamp, sind der Ansicht, daß die Schlaffsucht bakteriellen Ursprungs sei. Derselben Meinung sind Kuboni und Garboni (4), welche aus kranken Raupen einen dem *Streptococcus bombycis* ähnlichen *Micrococcus* züchteten, sowie auch Maccjati (5), welcher, gleich den anderen Forschern, 2 Bakterienformen — einen Coccus und ein Stäbchen — beobachtete. Krasilschtschik (6) hält auch Bakterien für Erreger der Schlaffsucht der Seidenraupen. Er isolierte einen neuen Mikroben — *Streptococcus Pastorianus* — welchen er als spezifischen Erreger der Schlaffsucht betrachtet.

Andere Forscher, Werson, Wladowitsch und Bellotti (7), halten es für unerwiesen, daß die Ursache der Schlaffsucht Bakterien seien, wobei sie sich darauf stützen, daß sie bei kranken Raupen bei weitem nicht immer Bakterien vorfanden; es gab Fälle, wo keine Spur von irgend welchen Bakterien zu entdecken war.

In Bezug auf Heredität der Schlaffsucht zerfallen die Ansichten der Forscher in 2 Gruppen: Maccjati und Gorbatscheff (8) halten diese Krankheit für hereditär, während Pasteur, Werson, Wladowitsch, Belotti, Schmuindsinowitsch (9) dieses abstreiten.

Eine andere Krankheit der Seidenraupen, bekannt unter der Benennung Flascherie, ist ihren Kennzeichen nach der Schlaffsucht sehr ähnlich. Werson und Wladowitsch, welche dieselben studierten, betrachten diese Erkrankung als chronische Form der Schlaffsucht. Beide Forscher fanden bisweilen, aber nicht immer, bei kranken und toten Raupen Mikrokokken; die Stäbchenform

42*

war nicht anzutreffen. Nach Werson und Wladowitsch sind nicht Bakterien die Urheber der Flascherie.

Es existiert noch eine Seidenraupenkrankheit, genannt „Glanzraupen“ (Haberland); dieselbe ist scheinbar ebenfalls bakteriellen Ursprungs; einige betrachten dieselbe als eine von den Schlaffsuchtformen. Die daran erkrankten Raupen sehen aus wie injiziert, glänzend, ihr Darm enthält fast gar kein Blut, weswegen sie als fast durchsichtig erscheinen.

Eine weitere Krankheit der Seidenraupen ist die sogenannte Gelbsucht oder Fettsucht; diese Erkrankung ist durch folgende Kennzeichen charakterisiert: Die Haut der kranken Raupen wird glänzend, die Raupe wird dick und kurz. Je weiter die Krankheit fortschreitet, desto voller wird die Raupe und nimmt eine hellgelbe Färbung an. Schließlich platzt die Haut, unterhalb derselben quillt eine trübe, schnell faulende Flüssigkeit hervor; das ist Blut, welches infolge der Krankheit seine Transparenz eingebüßt hat. Die Trübung ist durch die Anwesenheit kleiner Körperchen, über deren Wesen verschiedene Ansichten herrschen, bedingt. Nach Werson und Panbianko sind es Krystalle.

Eine andere Ansicht ist von Bolle (10) ausgesprochen worden. Nach seiner Meinung sind diese Körperchen parasitäre Protozoen, welche sich durch 1) Teilung, 2) Sprossung, 3) Sporenbildung vermehren, und welche die Erreger der Gelbsucht sind. Bolle ist es nicht gelungen, durch Fütterung mit diesen Körperchen Gelbsucht zu erzeugen, aber mit Hilfe von Injektionen konnte er Todesfälle mit Symptomen von Gelbsucht hervorrufen. Daraus folgert Bolle, daß es parasitäre Protozoen gibt, welche diese Krankheit erzeugen können.

Einige andere Autoren betrachten die Gelbsucht als von Bakterien verursacht. So hat Gorbatschew (11) aus gelbsüchtigen Raupen einen besonderen *Micrococcus*, mit dem er gesunde Raupen impfte, ausgeschieden. Dieser *Micrococcus* erwies sich für letztere als pathogen und erzeugte sämtliche Symptome dieser Krankheit. Krasilschtschik (7) beschreibt in einer oben zitierten Arbeit einen besonderen *Micrococcus*, *Micrococcus lardarius*, welchen er als einen für die Gelbsucht spezifischen betrachtet. Derselben Meinung sind Kawrayski und Rossinski (12); sie züchteten aus kranken und toten Raupen (noch vor Erscheinen der Krasilschtschikschen Arbeit) einen mit dem von letzterem beschriebenen *Lardarius* nach allen Seiten identischen *Micrococcus*. Kawrayski stellte Versuche an zur Klärung der Frage, ob Gelbsucht für gesunde Raupen ansteckend sei, und kam zu einem negativen Schluß. Farbs (13) schildert eine Krankheit der Seidenraupe, welche er Jaunes (Jaunice) nennt — (das ist nichts anderes als Gelbsucht); als Erreger dieser Krankheit betrachtet er einen von ihm in Reinkultur ausgeschiedenen und dem Schlaffsuchterreger sehr ähnlichen *Micrococcus*.

Somit sind alle Gelbsuchtforscher, mit Ausnahme von Bolle, der Ansicht, daß die betreffende Krankheit bakteriellen Ursprungs sei.

Unter nahen Verwandten der Seidenraupe, *Ocneria dispar* (L) und *Ocneria monachae* (L), ist offenbar eine Seuche bakteriellen Ursprungs verbreitet, welche den Namen Schlaffsucht führt und in ihren Symptomen mit der Schlaffsucht der Seidenraupen viel gemeinsames hat. Die von dieser Krankheit affizierten Raupen sind wenig beweglich, fressen wenig, der Leib wird schlaff, auf den Bäumen sitzend, halten sie sich nur an ihren Bauchfüßchen (eine für die Schlaffsucht der Seidenraupe als charakteristisch geltende Pose), der Darm enthält eine dunkelbraune Flüssigkeit, im Blute, Magensaft und in den Blutkörperchen erscheinen sonderbare polygonale Körperchen, über deren Natur nichts bekannt ist. Die Raupen gehen schließlich zu Grunde. Kurz vor dem Tode und bald danach erscheint der Leib der Raupe mit einer dunkelbraunen, fauligen, stinkenden Flüssigkeit, in welcher Millionen von Bakterien wimmeln, gefüllt. Sämtliche Forscher, welche sich mit der Schlaffsucht der Nonne beschäftigten, stimmen darin überein, daß es eine Krankheit epidemischen Charakters sei, und daß die Ausbreitung dieser Krankheit durch Hunger der Raupen und feuchtes, sowie kaltes Wetter begünstigt werde, und daß die Urheber derselben unter den niederen Organismen, und zwar unter den Bakterien zu suchen seien.

Mit Studien über diese Krankheit beschäftigten sich Chaplewski (14), Tangl (15), Tubeuf (16), Schmidt und Herain (17), Severin (18), Scheiermann (19), Jäger und Schmidt (20), Hoffmann (21), Dorer (22) und Eckstein (23). Sie alle betrachteten Bakterien als Ursache dieser Krankheit. So hat Hoffmann aus kranken und toten Raupen ein von ihm *Bacillus flacheriae* genanntes Bakterium ausgeschieden, welches er als spezifisch für Schlaffsucht hält, Tubeuf hat aus von ihm untersuchten kranken Raupen einen Mikroorganismus isoliert, welchem er die Benennung *Bacterium monachae* gab, Severin hat zur Zeit der von ihm in den Wäldern des Tulaschen und Wladimirschen Gouvernements beobachteten Epidemien aus kranken Nonnenraupen eine konstant zu entdeckende Kultur des *Bacillus acidi lactici* gezüchtet, und aus kranken und toten Raupen der *Ocneria dispar* eine Reinkultur eines stäbchenförmigen Mikroben (ich experimentierte mit diesem Mikroben und werde ihn deshalb weiter unten näher beschreiben). Anderer Meinung sind Hartig (24) und Eckstein. Hartig betrachtet als Erreger dieser Krankheit hefeartige, einzellige Pilze, während Eckstein in einer um 6 Jahre später als jene erschienenen Arbeit (25) die Ansicht ausspricht, daß die Schlaffsucht der *Ocneria monachae* durch Peprinkörperchen, aber nicht durch Bakterien erzeugt wird.

Bakterielle Erkrankungen trifft man auch bei anderen Insekten; so sind unter Bienen sehr häufig Fälle von Faulbrut, einer epidemischen Infektionskrankheit, welche meistens die Larven affiziert.

Die Symptome der Krankheit sind folgende: Die Larven nehmen eine gelbe Färbung an, werden sehr weich, sie ver-

breiten einen leichten Uringeruch. Nach dem Tode ist ihr ganzer Leib mit einer Flüssigkeit gefüllt, in welcher sich eine Unmasse von Bakterien in Form von Stäbchen von $3,5 \mu$ Länge und $0,8 \mu$ Breite befindet. Dieses Stäbchen wurde in Reinkultur gezüchtet von Chesire und Cheyne (26) und *Bacillus alvei* genannt. Etwas später wurde es auch von Harrison (27) studiert, welcher die Beobachtungen von Cheyne und Chesire nach allen Seiten bestätigte.

Nach Metschnikoffs (28) Untersuchungen kommt beim Getreide-Laubkäfer (*Anisoplia austriaca*) eine der Schlafsucht ähnliche epidemische Krankheit vor, als deren Ursache er ein von ihm *Bacillus sulutarius* genanntes Bakterium ansieht.

Prof. Tichomiroff (29) hat bei der *Periplaneta orientalis* eine Infektionskrankheit beobachtet, als deren Ursache er ein von ihm *Bacillus periplanetae* genanntes Bakterium betrachtet.

Forbes (30) hat eine Blinddarmerkrankung beim *Bissus bucopterus* beschrieben. Dieselbe wird durch den von Burill im Jahre 1883 isolierten und beschriebenen *Micrococcus insectorum* erzeugt.

Die Krasilschtschiksche Arbeit: „Sur deux maladies contagieuses des larves des *Lamellicornia*, causées par les bactéries“ (31) ist den Krankheiten der Larven der *Lamellicornia* gewidmet. Autor hat bei denselben zwei von Bakterien erzeugte Krankheiten beobachtet und hat aus toten und kranken Larven zwei Bakterien gezüchtet: den *Bacillus septicus insectorum* und *Bacillus trachealis sive graphitosis*.

Nach einer eingehenden Schilderung der Morphologie beider Bakterien berichtet Krasilschtschik über seine Versuche von künstlicher Infektion der *Lamellicornia*-Larven mit beiden.

Bei künstlicher Infektion mit *Bacillus septicus insectorum* gingen die Larven nach 5 Tagen zu Grunde — mit *Bacillus trachealis sive graphitosis* trat der Tod ungefähr nach 48—60 Stunden ein. Die Infektion wurde auf dreifache Weise ausgeführt:

- 1) durch Einführung von Blut oder Gewebspartikel toter Insekten unter die Cuticula des Käfers,
- 2) durch Injektion von Reinkulturen,
- 3) durch Inokulation, d. h. durch Aufstreichen einer Bakterienkultur auf einer von Chitin entblößten Stelle.

Nach der ersten Methode gelang es, Käfer nur mit dem *Bacillus graphitosis*, welcher für Käfer überhaupt im höchsten Grade pathogen ist, zu infizieren; die zweite und dritte Methode war für beide Bakterien wirksam.

Krasilschtschik hat noch mit einem dritten Bakterium, dem *Bacillus flacheriae*, Versuche angestellt; bei Injektion derselben fand er, daß die Larven der *Lamellicornia* davon sehr selten absterben.

Bei Impfung von Seidenraupen mit aus dem Blute von Käferlarven ausgeschiedenen Bakterien fand Krasilschtschik, daß

einige Raupen abstarben, andere am Leben blieben. Die größte Sterblichkeit bestand bei den Raupen der 5. Generation. Es existiert eine Krisis der Krankheit und wenn die Seidenraupe dieselbe überlebt, so erholt sie sich.

Im Jahre 1897 erschien eine Arbeit von Nuttall: Zur Aufklärung der Rolle, welche die Insekten bei der Verbreitung der Pest spielen (32). Dieser Autor stellte Versuche von künstlicher Infektion von Fliegen und Wanzen mit Pestbacillen an, um aufzuklären, welche Rolle diese Insekten bei der Verbreitung der Pest spielen, und gelangte zu dem Schluß, daß sie die Seuche stark verbreiten.

Doch in einer 2 Jahre später erschienenen Arbeit: „Die Rolle der Insekten, Arachniden und Miriapoden als Träger bei der Verbreitung von durch Bakterien etc.“ (33), läßt Nuttall einige seiner Schlußfolgerungen fallen, und zwar findet er nun, daß die Wanzen das infektiöse Agens wenig verbreiten (in seiner Arbeit vom Jahre 1897 hatte er die entgegengesetzte Meinung ausgesprochen).

Tabanus verbreitet den Anthrax, das Rindvieh stechend.

Gao (Ueber den Durchtritt von Mikroorganismen durch den Darm einiger Insekten) (34) untersuchte den Darm verschiedener Insekten (darunter den der *Periplaneta orientalis*) und fand daselbst Bakterien, welche er in Reinkulturen ausschied. So hat er *Bacterium coli*, *Bacterium fluorescens liquefaciens*, *Sarcina alba*, Sporen des *Anthraxbacillus* und viele andere gezüchtet.

Zum Abschluß des Literaturauszuges seien noch die Arbeiten von Kowalewski, Metschnikoff und Balbiani angegeben, welche an verschiedenen Insekten experimentierten, indem sie ihnen Bakterienkulturen injizierten.

Die Kowalewskische Arbeit: „Etudes experimentales sur les glandes lymphatiques des Invertébrés“ (35) enthält eine Beschreibung von zahlreichen, vom Autor an verschiedenen Vertretern der Mollusca und Arthropoda ausgeführten Injektionen. Injiziert wurden vornehmlich *Bacillus tuberculosis avium* und *Bacillus anthracis* (asporogene Rasse).

Von Insekten wurden Injektionen vornehmlich bei den Orthoptera *Gryllus* und *Truxalis* gemacht. Nach Impfungen mit beiden Bakterien gingen die Insekten zu Grunde. Einzelne Grillen starben nach einer Woche; eine von ihnen lebte 23 Tage nach der Injektion.

Auf Grund der in der Kowalewskischen Arbeit angeführten Daten läßt sich nicht mit Sicherheit behaupten, daß die Insekten durch Bakterien zu Grunde gingen; er machte keine Kontrollinjektionen, und deswegen kann man annehmen, daß die Insekten durch den Injektionsprozeß an und für sich zu Grunde gingen. Andererseits konnten die Insekten einfach schon davon sterben, daß sie in Gefangenschaft gehalten wurden, während der Autor behufs einer Klärung dieses Umstandes keine Kontrollpartie zurückließ.

Metschnikoff beschreibt in seinem Werke über Immunität (36)

Impfungen von Larven des Käfers *Oryctes nasicornis* mit Anthraxbacillen, Choleravibrionen und Diphtheriebacillen. Von diesen 3 Bakterien erwies sich als pathogen für die Larven bloß der Choleravibrio allein. Es genügte, $\frac{1}{8000}$ einer Kultur dieses Mikroben zu injizieren, um den Tod zu erzeugen. Die Anthrax- und Diphtheriebacillen erwiesen sich für die Larven des *Oryctes nasicornis* als nicht pathogen.

Balbani (Etudes bactériologiques sur les Arthropodes) (37) injizierte verschiedenen Insekten diverse saprophytische Bakterien, und fand, daß viele von denselben unter allen Erscheinungen der Schlafsucht zu Grunde gingen.

Nun wende ich mich der Darlegung meiner eigenen Versuche zu. Dem oben von mir angedeuteten Plane gemäß werde ich in diesem Teile meiner Arbeit die Versuche von künstlicher Infektion der Seidenraupen und Küchenschaben mit Reinkulturen einiger Bakterien behufs einer einstweiligen Feststellung ihrer Pathogenität oder Nichtpathogenität für den Organismus dieser Insekten beschreiben. Die Reinkulturen, mit welchen ich es zu tun hatte, waren folgende: 1. *Bacillus flacheriae* (Hofmann); 2. *Bacterium monachae* (Tubeuf) (die Autoren, welche diese Bakterien ausgeschieden haben, betrachten dieselben als spezifische Erreger der Flascherie der Nonnenraupe); 3. eine Reinkultur eines von Severin aus dem Kadaver einer an Flascherie zu Grunde gegangenen Seidenraupe ausgeschiedenen und in seiner Arbeit „Bakterien in ihrem Verhältnis zu dem Organismus der Insekten“ (19) beschriebenen stäbchenförmigen Mikroben; 4. eine Reinkultur eines ebenfalls von Severin aus dem Kadaver einer Nonnenraupe ausgeschiedenen und in der nämlichen Arbeit beschriebenen Mikroben; diese Kultur ist nichts anderes als der *Bacillus acidilactici*; 5. eine gleichfalls von Severin aus kranken Raupen des unpaarigen Seidenspinners ausgeschiedene Reinkultur; 6. außer den aufgezählten Bakterien hatte ich noch eine von mir aus dem Blute einer Küchenschabe gezüchtete Bakterienart zur Verfügung.

Jetzt lasse ich eine Beschreibung zweier von Severin aus dem Kadaver einer unter allen Erscheinungen der Schlafsucht gestorbenen Seidenraupe und aus dem Kadaver einer Larve der *Ocneria dispar* ausgeschiedener Bakterien, sowie auch eine Beschreibung eines von mir aus dem Blute einer Küchenschabe isolierten Bakteriums folgen.

In meiner Arbeit werden die Bakterien, mit welchen ich experimentierte, mit denselben Nummern bezeichnet werden, unter welchen sie in der Aufzählung figurierten. Ich mache mich nun an die Beschreibung der Bakterien No. 3, 5 und 6.

Bakterium No. 3, ausgeschieden von Severin aus dem Kadaver einer Seidenraupe.

Kolonieen auf Agar nach 24 Stunden bei 37—38° C: Tiefenkolonieen kahnförmig, ausnahmsweise rund oder von unregelmäßiger Form, von dunkelbrauner Farbe, das Zentrum dunkler als der periphere Teil, Oberfläche weniger granuliert, Ränder dunkel, scharf umschrieben, fein gezackt; Oberflächenkolonieen rundlich,

hellbraun mit gelblicher Schattierung; die Intensität der Färbung nimmt in der Richtung der Peripherie ab, so daß die Konturen ganz hell, glatt erscheinen, die Oberfläche ist kaum merklich granuliert. Makroskopisch flache, runde, perlmutterglänzende Scheiben.

Gelatineplatte nach 48 Stunden bei Zimmerwärme: Tiefenkolonien rund oder oval, hellgelbbraun, Oberfläche granuliert, Konturen glatt, scharf umschrieben, dunkel gefärbt; Oberflächenkolonien unregelmäßig abgerundet, gelblich-braun, Oberfläche kaum merklich radiär, Ränder teils glatt, teils regelmäßig eingekerbt. Etwa nach 5 Tagen wird die Oberfläche der Kolonien deutlich granuliert, die Ränder der Oberflächenkolonien werden festoniert, makroskopisch rund, flach, weiß. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agarstrich in 24 Stunden bei 37–38° schmal, flach, weiß, feuchtglänzend, bei durchfallendem Licht perlmutterglänzend. Unter dem Mikroskope kleine Stäbchen, nicht mehr als aus 2 Gliedern bestehend, in lebhafter Eigenbewegung.

Gelatinestich in 24 Stunden bei Zimmerwärme dünn, zart, weiß, undurchsichtig, an der Einstichstelle eine kleine Delle. Ungefähr nach 4 Tagen wird der Stich feingekörnt, an der Einstichstelle entwickelt sich eine feuchtglänzende, weiße Auflagerung, nach einer Woche ist letztere etwas größer, flach, rund, mit gezähnten Rändern. Oefters wird die ganze Gelatineoberfläche von einem sehr zarten, feingelappten Belag überzogen.

Gelatinestrich nach 48 Stunden schmal, flach, perlmutterglänzend.

Bouillon wird in 24 Stunden bei 37–38° diffus getrübt, mit geringem Bodensatz; mikroskopisch sieht man Stäbchen mit abgerundeten Enden, von verschiedener Länge, aber keine langen Fäden, wobei die längsten Stäbchen auch die dicksten sind. Dadurch entsteht ein buntes Bild, als ob eine unreine Kultur vorläge. Die Breite der Stäbchen beträgt 0,5–1 μ , die Länge der einzelnen Glieder des Stäbchens 2–10 μ . Die Stäbchen zeigen eine mannigfaltige Bewegung. In den folgenden Tagen bleibt die Bouillonkultur unverändert.

Im hängenden Tropfen wird dasselbe beobachtet wie in Bouillon. Kartoffelstrich nach 24 Stunden bei 37–38° schmal, dünn, von derselben Farbe wie die Kartoffelscheibe, mit gelblicher Schattierung. Unter dem Mikroskope recht dicke Stäbchen von verschiedener Länge, oft in Fadenform, viele sind gebogen; aktive Bewegung nicht zu sehen; neben diesen Stäbchen trifft man in sehr geringer Anzahl auch solche kleine Stäbchen, wie man sie auf Agar sehen kann. Färben tun sich die Stäbchen nicht ganz gleichmäßig. Nach einer Woche wird der Strich ziemlich breit, üppig, von schmutziggelber Farbe. Unter dem Mikroskope zerfallen die früher langen Fäden in kurze, nicht mehr als zweigliedrige Stäbchen, und nur wenige lange Fäden bleiben erhalten.

Milch wird nicht koaguliert.

Bakterium No. 5, isoliert von Severin aus einer lebendigen Larve der *Ocneria dispar*.

Agarplatte nach 24 Stunden bei 30° im Thermostaten: Tiefenkolonien dunkelbraun, rund oder oval, mit unregelmäßigen scharfen, feingezähnelten Rändern. Oberflächenkolonien rund, hellgelb, fast von derselben Farbe wie das Substrat, homogen, regelmäßig konturiert.

Gelatineplatte nach 42 Stunden bei Zimmerwärme: Tiefenkolonien oval, scharf umschrieben, gelb; Oberflächenkolonien haben das Aussehen eines feinen, zarten Kragens von hellgelber Farbe, mit homogener Struktur.

Agarstrich nach 24 Stunden bei 30° üppig, feuchtglänzend, breit, ziemlich erhaben, bei durchfallendem Licht gelblich. Unter dem Mikroskope kleine Stäbchen mit Eigenbewegung.

Gelatinestrich nach 24 Stunden bei Zimmerwärme weiß, glänzend, breit, flach, bei durchfallendem Lichte transparent wie Perlmutter.

Gelatinestich nach 24 Stunden bei Zimmerwärme weiß, zart, transparent, oben ein wenig breiter als unten; an der Einstichstelle schwache, oberflächliche Auflagerung. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Nach 72 Stunden erscheint an der Einstichstelle ein starker, baumstammartig verästelter, oberflächlicher Belag.

Kartoffelstrich nach 24 Stunden bei 30° fein, zart, schmal, erhaben, gelbbraun. Nach 8mal 24 Stunden wird der Strich braun, dick und breit.

In Milch nach 24 Stunden bei 30° keine Veränderungen. Nach 10mal 24 Stunden neutrale Reaktion, fadenziehend, aber nicht koaguliert, schleimige Gärung.

In Bouillon nach 24 Stunden bei 30° schwache Trübung, geringer Bodensatz. Unter dem Mikroskope kleine Stäbchen mit ziemlich träger Eigenbewegung. Keine Häutchenbildung. Die Bakterien sind 2—3 μ lang und etwa 1,25 μ breit.

Im hängenden Tropfen nach 24 Stunden bei 30° kurze Stäbchen mit langsamer Eigenbewegung, einzeln oder paarweise gelagert.

Bakterium No. 6, von mir aus dem Blute einer Küchenschabe isoliert.

Dieses Bakterium wurde unter folgenden Umständen ausgeschieden: Einer aus 3 Exemplaren bestehenden Küchenschabenpartie machte ich eine Stichimpfung am 24. Nov. 1901 mit einer 1-tägigen Agarkultur (bei 30° C im Thermostaten) des Bakteriums No. 1 *Bacillus flacheriae* (Hofmann). Die Schaben gingen alle zu Grunde. Bei der Untersuchung ihres Blutes hatte ich bei einer von ihnen eine Kultur ausgeschieden, das eine von den Bakterien war der *Bacillus flacheriae*, das andere eine mir unbekannte Species, welche ich in Reinkultur züchtete. In den Wintermonaten 1901—1902 begegnete ich oft diesem Mikroorganismus im Blute von Küchenschaben, an welchen noch keine Versuche angestellt worden waren. Derselbe ruft bei ihnen folgende Krankheitssym-

ptome hervor: Die Schaben sind schlaff, fressen und trinken mit Unlust, ihre Bewegungen sind träge. Schließlich legt sich die Schabe auf den Rücken, es tritt totale Lähmung der Extremitäten ein und sie stirbt ab. Es ist mir nicht gelungen, ins klare zu bringen, auf welchem Wege die Schaben bei natürlichen Lebensbedingungen durch dieses Bakterium infiziert werden. Fütterungsversuche von Schaben mit einem Futter, welches mit einer Reinkultur dieses Bakteriums bestrichen war, ergaben ein negatives Resultat.

Unter anderem erinnere ich daran, daß Prof. Tichomiroff bereits in den 70er Jahren eine Schabenkrankheit, welche mit der eben beschriebenen einige Aehnlichkeit hat, beobachtet hat. Der einzige Unterschied besteht darin, daß ich niemals „eine Diarrhöe mit gelbbrauner Flüssigkeit“, welche stets von Tichomiroff beobachtet worden ist, gesehen habe. Der von diesem Autor „*Bacillus periplanetae*“ benannte Erreger dieser Krankheit hat scheinbar mit dem von mir ausgeschiedenen Mikroorganismus nichts Gemeinsames. Nach der Tichomiroffschen Beschreibung erscheint der *Bacillus periplanetae* als cylindrisches Stäbchen mit abgerundeten Enden, welches einzeln oder paarweise gelagert ist; die Stäbchen haben keine Eigenbewegung, ihr Protoplasma ist granuliert, mit 2—3 Vakuolen in jedem Stäbchen, keine Endosporenbildung zu sehen, Länge 3—5 μ , Breite 1 μ . Die von mir ausgeschiedene Species besitzt keine Eigenbewegung. Dieser Vergleich läßt sich nicht detaillierter ausführen, weil der *Bacillus periplanetae* von Tichomiroff nicht in Reinkultur gewonnen war.

Der von mir ausgeschiedene Mikroorganismus hat folgende Merkmale:

Agarplatte nach 24 Stunden bei 30°: Tiefenkolonien kahnförmig, rund und oval, dunkelgraubraun, fast braun. Oberflächenkolonien rund, hellgraubraun, mit verschwommenen, unkenntlichen Konturen, von homogener Struktur, flach; die älteren Kolonien entsenden nach allen Seiten stumpfe, abgerundete, homogene Ausläufer von hellgelber Farbe.

Gelatineplatte nach 24 Stunden bei Zimmerwärme: Tiefenkolonien graubraun, rund, homogen, scharf konturiert; Oberflächenkolonien, junge Kolonien, welche noch nicht begonnen haben, die Gelatine zu verflüssigen, gelb, rund, mit feingezackten Rändern und gekörnter Struktur. Ältere, die Gelatine bereits verflüssigende Kolonien dunkelgraubraun, flach, mit gestreifter Oberfläche und verwischten Rändern. Nach 48 Stunden verflüssigen sämtliche Kolonien die Gelatine.

Agarstrich nach 24 Stunden bei 30° üppiger, feuchtglänzender, weißer, erhabener, breiter, bei durchfallendem Lichte perlmutterglänzender Belag. Unter dem Mikroskope Mikrobakterien, meistens paarweise, mit Eigenbewegung.

Gelatinestich nach 24 Stunden bei Zimmerwärme: Die Gelatine ist den ganzen Stichkanal entlang strumpffartig verflüssigt. Die Verflüssigung erfolgt sehr rapid.

Kartoffelstrich nach 24 Stunden bei 30° gelblicher, schmaler, erhabener, ziemlich üppiger Belag. Nach 3 Tagen sehr breit, erhaben, glänzend, graubraun. Nach 4 Tagen ist die ganze Oberfläche der Kartoffelscheibe überzogen. Die Kartoffelkultur erhält ihre Lebensfähigkeit 6 Monate und darüber.

Milch wird binnen 24 Stunden bei 30° zur Gerinnung gebracht, ihre Reaktion ist schwach sauer.

In Bouillon nach 23 Stunden bei 30° starke Trübung, kein Häutchen, der Bodensatz zerfällt leicht in zarte Fäden. Unter dem Mikroskope Mikrobakterien mit Eigenbewegung, einzeln gelagert, Länge 2—4 μ , Breite etwa 1,3 μ .

Im hängenden Tropfen bei 30° nach 24 Stunden dasselbe wie in Bouillon.

Indem ich nun zur Beschreibung der Versuche selbst übergehe, erinnere ich daran, daß ich die Bakterienkulturen zur Bequemlichkeit mit Nummern bezeichnen werde:

No. 1. *Bacillus flacheriae* (Hofmann),

No. 2. *Bacterium monachae* (Tubef),

No. 3. das von Severin aus einer Seidenraupe ausgeschiedene Bakterium,

No. 4. Kultur des Milchsäurebakteriums,

No. 5. das von Severin aus einer Larve der *Ocnieria dispar* ausgeschiedene Bakterium,

No. 6. das von mir aus dem Blute einer Schabe isolierte Bakterium.

Ich beginne mit der Schilderung der Versuche an Seidenraupen. Die zu den Versuchen verwendeten Seidenraupen wurden 2mal im Laboratorium aus Grains aufgezogen, im Frühjahr 1901 und 1902. Sie wurden mit ebenfalls im Laboratorium aufgewachsener Skorzonerenwurzel aufgefüttert, wodurch die Möglichkeit geboten wurde, die Versuche im März und April auszuführen.

Die Infektion der Raupen bewerkstelligte ich durch Injektionen von Reinkulturen. An den Versuchen beteiligten sich 5 Bakterien-species; nicht empfänglich waren die Seidenraupen lediglich gegen das von mir aus dem Blute einer Schabe ausgeschiedene Bakterium.

Die Injektionen im Frühjahr 1901 wurden an Raupen des 5. Alters mit 1-tägigen Bouillonkulturen (bei 30° C im Thermostaten) ausgeführt. Dazu wurde eine Spritze von folgender Konstruktion angewandt: Eine Glaskanüle wurde über der Gasflamme ganz spitz ausgezogen, in das entgegengesetzte breite Ende wurde hygroskopische Watte eingelegt. Dieses Röhrchen wurde in Watte und Filtrierpapier eingehüllt, bei 180° 20 Minuten lang sterilisiert. Zu jeder Injektion wurde eine neue Kanüle verwendet. Um eine Injektion zu machen, nahm ich das breite Ende in den Mund, saugte durch das spitze Ende die Bouillonkultur auf, führte dann die Spitze in die Grenzregion des 5. und 6. Bauchsegmentes ein und ließ 3—4 Tropfen in die allgemeine Körperhöhle der Raupe einlaufen.

Den Injektionsprozeß selbst vertrugen die Raupen gut.

Das Bakterium No. 2. — *Bacterium monachae* — wurde

einer Raupe einverleibt. Dieselbe fühlte sich die ganze Zeit wohl und spann ihren Kokon am 9. Tage nach der Injektion.

Bakterium No. 3. wurde einer Raupe injiziert; diese fraß wenig, fühlte sich schlecht und wuchs fast gar nicht binnen 5 Tagen, vom 6. Tage an erholt sie sich, und am 11. Tage spann sie ihren Kokon.

Bakterium No. 4, ebenfalls einer Raupe injiziert; diese fühlte sich die ganze Zeit wohl und spann am 8. Tage ihren Kokon.

Bakterium No. 5, ebenfalls einer Raupe injiziert; diese fühlte sich schlecht, fraß wenig, aber von dem 5. Tage nach der Impfung an erholte sie sich und spann nach 11 Tagen wohlbehalten ihren Kokon.

Das Bakterium No. 1 — *Bacillus flacheriae* — wurde 5 Raupen einverleibt.

Die erste Raupe starb 24 Stunden nach der Injektion; ihre Farbe war nicht verändert, sie wurde kleiner, die Cuticula erweicht, faltig, unter der Raupe ein großer, gelber, übelriechender Fleck, sichtbar ausgeflossenes Blut.

Die zweite und dritte Raupe starb 48 Stunden nach der Injektion unter gleichen Symptomen. Ihre Leichen waren zusammengeschrumpft und schwarz, der Darmkanal mit flüssigem Brei gefüllt.

Die vierte und fünfte Raupe starb 24 Stunden nach der Impfung. Die Leichen kohlenschwarz und geschrumpft.

Tabelle 1.

	Geimpft	Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	5	—	5
" " 2	1	1	—
" " 3	1	1	—
" " 4	1	1	—
" " 5	1	1	—
Summa	9	4	5

Die Versuche im Frühjahr 1902 wurden anders ausgeführt als im Jahre 1901. Zur Injektion wurde keine Bouillon, sondern eine 1-tägige (bei 30° im Thermostaten), mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu leichter Trübung aufgeschwemmte Agarkultur benutzt. Die Injektionen wurden mit der Pravaz-Spritze in das 6. Bauchsegment ausgeführt; es wurden 0,2 ccm Flüssigkeit eingespritzt. Die Cuticularegion, wo die Einspritzung gemacht wurde, wurde vorher mit einer Sublimatlösung (1 : 1000), danach mit sterilem Wasser abgewaschen und mit steriler Watte abgewischt. Die Pravaz-Spritze, sowie auch alles Zugehörige (z. B. das Uhrgläschen, in welches die Kultur vor Füllung der Spritze umgegossen wurde) wurde durch 40 Minuten währendes Auskochen sterilisiert.

Zu den Versuchen mit jedem Bakterium wurde eine Gruppe aus 5 Raupen des 5. Alters genommen. 3 Raupen wurden mit der Bakterienkultur geimpft; eine von diesen wurde, wenn möglich, täglich zur Feststellung des Einflusses der Injektion auf ihren

Gesundheitszustand auf einer Chemikerwage gewogen, die vierte Raupe erhielt eine Injektion mit physiologischer Kochsalzlösung, um auf diese Weise ins klare zu bringen, welchen Einfluß auf die Raupen eine Läsion der Cuticula und Einverleibung von Kochsalzlösung ausübt; diese Raupe wurde auch gewogen. Der fünften Raupe wurden gar keine Injektionen gemacht. Letztere wurde gleichfalls gewogen und diente zur Kontrolle der ganzen Partie.

1. Versuch am 16. April, Injektion der Kultur No. 1 — *Bacillus flacheriae* (Hofmann).

Dem Versuch unterlagen 5 Raupen; drei wurden mit der Bakterienkultur geimpft, einer wurde physiologische Kochsalzlösung, einer gar nichts injiziert.

Alle mit der Bakterienkultur geimpften Raupen gingen in weniger als 24 Stunden zu Grunde. Sie waren weiß und weich. Ihr Blut wurde auf Agarplatten ausgesät, und aus demselben mikroskopische Präparate angefertigt. In den Präparaten waren sehr viele Bakterien; die Plattenkulturen und die von diesen auf verschiedenen Nährmedien gemachten Umimpfungen lieferten den Beweis, daß in dem Blute eine Reinkultur des *Bacillus flacheriae* enthalten war. Die Raupe, welcher physiologische Kochsalzlösung injiziert war, fühlte sich wohl, und der von ihr gesponnene Kokon war schwer und groß. Mit der Raupe, welcher nichts injiziert worden war, ereignete sich folgendes: Sie magerte in einem fort ab; nach 7 Tagen wurde sie schwarz, begann in steter Unruhe sich hin und her zu bewegen, unter ihr war ein großer dunkler Fleck. Nach 10 Tagen starb sie ab. Die Leiche war klein, geschrumpft und schwarz. Aussaaten aus dem Blute auf Agarplatten, sowie auch Umimpfungen aus letzteren auf diverse Nährböden zeigten, daß in dem Blute dieser Raupe in ungeheurer Menge eine Reinkultur des *Bacillus flacheriae* vorhanden war. Ich glaube, daß sie sich von den injizierten Raupen angesteckt hat.

Wie gesagt, wog ich zur Bestimmung des Einflusses der Injektion auf ihre Gesundheit die Raupen auf einer Chemikerwage. In den folgenden Tabellen ist 1) das Gewicht der Raupen, 2) die Zu- und Abnahme ihres Gewichtes binnen 24 Stunden in Prozentsätzen verzeichnet:

Tabelle 2.

1.	Gewicht vor der Injektion g	In 24 h g	In 2×24^h g	In 4×24^h g	In 6×24^h g	In 10×24^h g	
Kulturinjektion	2,012	gestorb.	—	—	—	—	—
Phys.Kochsalzl.-Inj.	0,981	0,873	0,84	1,0146	1,046	1,43	2,26
Keine Injektion	0,89	0,8672	0,79	0,7014	0,71	0,61	gestorb.
2.							
Phys.Kochsalzl.-Inj.	—	— 11 %	— 3,9 %	+ 20 %	+ 3 %	+ 36 %	+ 192 %
Keine Injektion	—	— 3 %	— 7 %	— 11 %	+ 1 %	— 14 %	gestorb.

Aus dieser Tabelle ist es erstens ersichtlich, daß die Injektion von physiologischer Kochsalzlösung ein vorübergehendes Unwohlsein der Raupe, welches sich in einer Gewichtsabnahme in den ersten Tagen nach der Injektion äußerte, hervorgerufen hat, und daß die ohne Injektion gebliebene Raupe ganz zu Beginn des Versuches erkrankt ist, — was daraus zu ersehen ist, daß diese innerhalb der ersten 24 Stunden 3 Prozent ihres Gewichtes verloren hat.

2. Versuch am 23. April mit der Kultur No. 4.

Im ganzen 5 Raupen; dreien die Kultur No. 4 injiziert, einer physiologische Kochsalzlösung und noch einer keine Injektion.

Keine von den 5 Raupen ging zu Grunde; nach 5—6 Tagen spinnen sie sich alle ein. Aus den Gewichtstabellen ist klar zu ersehen, daß die Raupen sich die ganze Zeit wohl fühlten:

Tabelle 3.

1. Gewicht der Raupen	Vor dem Versuch g	Nach 2 × 24 St. g	Nach 3 × 24 St. g	Nach 4 × 24 St. g	Nach 5 × 24 St. g	Nach 6 × 24 St. g
Kulturinjektion	2,6	3,013	3,34	3,327	3,159	
Phys.Kochsalzl.-Inj.	2,138	2,349	2,5802	2,538		
Keine Injektion	1,9024	2,47	2,7509	2,89	2,82	
2. Zu- u. Abnahme in Prozenten	Nach 2 × 24 St.	Nach 3 × 24 St.	Nach 4 × 24 St.	Nach 5 × 24 St.		
Kulturinjektion	+ 15 %	+ 10 %	— 0,3 %	— 5 %		
Phys.Kochsalzl.-Inj.	+ 15 %	+ 10 %	— 1,5 %	—		
Keine Injektion	+ 29 %	+ 11 %	+ 5,0 %	— 2 %		

Aus dieser Tabelle sieht man, daß die mit der Kultur No. 4 geimpfte Raupe sich ebenso fühlte, wie die mit der Kochsalzlösung-injektion, und gleich dieser an Gewicht zu- und abnahm. Eine Gewichtsabnahme vor der Einspinnung ist eine ganz normale Erscheinung, weil zu dieser Zeit die Raupen überhaupt etwas an Gewicht verlieren; bemerkt sei nur, daß beide Raupen — die mit der Kultur und die mit der Kochsalzlösungsinjektion — weniger an Gewicht zunahmen, als die nicht injizierte.

3. Versuch vom 24. April mit der Kultur No. 3.

Dreien Raupen wurde eine Bakterienkultur, einer physiologische NaCl-Lösung, und einer gar nichts injiziert.

Von den mit dem Bakterium No. 3 geimpften Raupen starb eine nach Verlauf von 24 Stunden. Die beiden übrigen, sowie auch die mit der NaCl-Lösung und die gar nicht injizierte, waren ganz wohl und spannen sich etwa 5—6 Tage nach Beginn des Versuches ein. Die gestorbene Raupe ließ vor dem Tode dreimal Spinnmaterie austreten und war bemüht, sich einzuspinnen. Ihr Körper war verkürzt, aber nicht zusammengeschrumpft und nicht schwarz, ohne Geruch, das Blut klar; aus letzterem wurden Aussaaten auf eine Agarplatte gemacht und ein mikroskopisches Präparat angefertigt.

Im Präparat konnte ich keine Bakterien finden, auf der Platte gingen in 24 Stunden bei 30° C 23 Kolonien auf. Uebertragungen

von der Platte auf diverse Nährmedien erwiesen, daß in dem Blute eine Reinkultur des Bakterium No. 3. enthalten war.

3 Raupen wurden gewogen.

Tabelle 4.

1. Gewicht der Raupen	Gewicht vor dem Versuche g	Nach 24 Stunden g	Nach 2×24 St. g	Nach 4×24 St.
Kulturinjektion	3,61	3,34	3,003	gestorben
Phys. NaCl-Lös.-Injektion	2,7	2,83	2,952	Einspinnung
Keine Injektion	2,058	2,71	3,478	Einspinnung
2. Zu- und Abnahme in Prozenten				
Kulturinjektion	—	— 8 %	— 10 %	—
Phys. NaCl-Lös.-Injektion	—	+ 4 %	+ 4 %	—
Keine Injektion	—	+ 31 %	+ 33 %	—

Auf dieser Tabelle sieht man, daß die mit der Kultur No. 3. geimpfte Raupe nach der Impfung an Gewicht abnahm, während beide Kontrollraupen zunahmen. Indessen ist auch hier die NaCl-Lösung für die Raupe nicht ganz indifferent.

4. Versuch vom 24. April. Injektion des Bakterium No. 2, *Bacterium monachae* (Tubef).

Der Versuch wurde an 5 Raupen angestellt. 3 Raupen wurde *Bacterium monachae*, einer physiologische NaCl-Lösung, einer gar nichts injiziert.

Sämtliche Raupen waren am Leben und gesund, und nach 4 bis 5 Tagen spannen sie sich ein.

Tabelle 5.

Gewicht in Gramm	Vor dem Versuch g	Nach 24 St. g	Nach 2×24 St. g	Nach 3×24 St.	Nach 5×24 St.
Kulturinjektion	2,63	2,65	2,305	Einspinnung	—
Phys. NaCl-Lös.-Injektion	3,22	3,824	3,93	—	Einspinnung
Keine Injektion	2,43	3,142	2,93	Einspinnung	—
Gewichtsschwankungen in Prozenten					
Kulturinjektion	—	+ 0,7 %	— 17 %	—	—
Phys. NaCl-Lös.-Injektion	—	+ 18 %	+ 3 %	—	—
Keine Injektion	—	+ 29 %	— 6 %	—	—

Alle Raupen nahmen nach der Injektion an Gewicht zu; der spätere Gewichtsverlust läßt sich dadurch erklären, daß die Raupen vor der Einspinnung nichts fressen.

5. Versuch vom 3. Mai. Injektion der Kultur No. 5.

4 Raupen wurden mit der Kultur geimpft, einer Raupe physiologische NaCl-Lösung, noch einer gar nichts injiziert. Im ganzen waren am Versuche 6 Raupen beteiligt. Die beiden

letzteren Raupen fühlten sich die ganze Zeit wohl und spannen ihre Kokons nach 8–9 Tagen. Zwei von den mit der Kultur geimpften Raupen waren am Leben, spannen ihre Kokons, eine nach 5 Tagen, die andere nach 10 Tagen. Die beiden anderen geimpften Raupen starben. Eine starb nach 11 Tagen; die Leiche war schwarz, aber nicht geschrumpft, verbreitete einen üblen Geruch.

Aussaaten auf Agarplatten und ein mikroskopisches Präparat aus dem Blut erwiesen, daß in letzterem eine Reinkultur des Bakterium No. 5. enthalten war; auf der Agarplatte gingen viele Kolonien auf.

Die andere Raupe starb nach 16 Tagen. 11 Tage nach der Injektion war dieselbe sehr mager und geschrumpft; die vordere Hälfte ihres Leibes war zweimal so dünn wie die hintere. Sie bewegte sich hilflos hin und her in der Schachtel und versuchte vergebens, sich einzuspinnen. Nach dem Tode wurde sie auch schwarz.

Ich fertigte kein Blutpräparat an, aber Aussaten auf Agarplatten, und Uebertragungen von diesen auf diverse Nährmedien erwiesen, daß in ihrem Blut in enormer Menge eine Reinkultur des Bakterium No. 5. enthalten war.

Bei diesem Versuche wurde eine Gewichtsbestimmung nur zweimal vorgenommen, vor dem Versuch und 3×24 Stunden nach Verlauf des Versuches.

Tabelle 6.

Gewicht der Raupen	Vor dem Versuch g	Nach 3×24 Stunden g
Kulturinjektion	2,782	2,32
Phys. NaCl-Lös.-Injektion	3,038	4,31
Keine Injektion	2,512	3,17
Zu- und Abnahme in Prozenten		
Kulturinjektion	—	— 16 %
Phys. NaCl-Lös.-Injektion	—	+ 41 %
Keine Injektion	—	+ 22 %

Die Tabelle zeigt, daß, obgleich die mit der Bakterienkultur geimpfte Raupe sich eingesponnen hat, der Kampf ihres Organismus mit der Infektion keineswegs ein leichter war, wofür der enorme Gewichtsverlust von 16 Proz. einen Beweis abgibt. Die mit NaCl-Lösung injizierte Raupe nahm mehr an Gewicht zu, als die nicht injizierte. Dieses ereignete sich wahrscheinlich deshalb, weil zur Injektion ein besonders kräftiges Individuum in die Hände fiel. Zudem bemerkte ich noch, daß eine Raupe desto leichter alle möglichen Experimente verträgt, je mehr sie wiegt, das Gewicht dieser Raupe vor dem Versuche betrug aber 3,038 g, war also ein recht großes.

Denselben Fall haben wir auch im vorigen Versuch.

6. Versuch vom 15. Mai. Injektion der Kultur No. 2, *Bacterium monachae*.

Es wurden zum zweitenmal 5 Raupen (ohne Kontrollraupen) mit *Bacterium monachae* geimpft, um zu bestätigen, daß eine Injektion dieser Bakterien für Raupen unschädlich sei. Von diesen starb keine; alle waren ganz wohl, fraßen die ganze Zeit gut und spannen sich ein; 3 Raupen nach 4 Tagen, 2 eine Woche nach der Injektion.

Zur besseren Uebersichtlichkeit lasse ich eine summarische Tabelle der Resultate aller von mir während zweier Jahre an Seidenraupen ausgeführten Injektionen folgen:

Tabelle 7.

	Anzahl der Raupen	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	8	—	8
Kultur No. 2	9	9	—
Kultur No. 3	4	3	1
Kultur No. 4	4	4	—
Kultur No. 5	5	3	2
Summa	30	19	11
NaCl-Lösung-Injektion	5	5	—

Aus den erzielten Resultaten läßt sich folgender Schluß ableiten: Eine Einführung der Kultur No. 1, *Bacillus flacheriae* (Hofmann) ins Raupenblut hat unbedingt den Tod zur Folge, die Kultur No. 4. und No. 2, *Bacterium monachae*, sind für die Raupen unschädlich, eine Mittelstellung nehmen die Kulturen No. 3. und No. 5. ein; bei der ersteren Kultur tritt der tödliche Ausgang in 25 Proz., bei der anderen in 40 Proz. ein. Mit anderen Worten, für die Seidenraupe gibt es Bakterien mit stark ausgesprochener Pathogenität, andere mit schwach ausgesprochener Pathogenität und wieder andere, welche für die Raupe Saprophyten sind.

2) Die Einführung von physiologischer Kochsalzlösung in das Blut der Raupe hat keineswegs einen tödlichen Ausgang zur Folge. Eine derartige Injektion erzeugt höchstens eine geringe Unpäßlichkeit, welche sich entweder in geringen, bald in Zunahme übergehenden Gewichtsverlusten in den ersten Tagen nach der Injektion, oder in schwächerer Gewichtszunahme der Raupe in den ersten Tagen im Verhältnis zu den nicht injizierten Raupen äußert. Angesichts der Resultate des Versuches vom Jahre 1901 läßt sich dasselbe über Injektionen der Raupen mit Fleischpeptonbouillon behaupten.

Mit einem Wort, alle Todesfälle bei den Seidenraupen infolge von Injektionen bei meinen Versuchen müssen ausschließlich dem alleinigen Einflusse der Bakterienkulturen zugeschrieben werden.

Nun wende ich mich der Beschreibung der Versuche an Schaben zu. Diese wurden mit Bakterien auf zweifache Weise

infiziert: 1) durch Injektion, 2) durch Fütterung mit infiziertem Futter.

Die ersten Injektionen wurden vermittelt einer schon oben beschriebenen Glaskanüle ausgeführt. Injiziert wurden in das Abdomen 1—2 Tropfen einer eintägigen Bouillonkultur (bei 30°). Zur Kontrolle wurde einigen Schaben sterile Bouillon injiziert. Anfänglich wurden bloß 5 Bakterienarten injiziert: No. 1, 2, 3, 4 und 5.

1. Versuch vom 21. März 1901.

Benutzt wurden 5 Schabenpartieen, zu zwei in jeder Partie. Diesen wurden die 5 obengenannten Bakterienarten injiziert. Kontrollschaben wurden nicht genommen.

Von diesen starben: Beide mit No. 1, *Bacillus flacheriae*, injizierte, beide mit No. 2, *Bacterium monachae*, beide mit *Bacterium* No. 5. und eine mit *Bacterium* No. 4. injizierte. Alle diese Schaben starben 48 Stunden nach der Injektion. Von den mit dem *Bacterium* No. 3. injizierten starb eine Schabe 24 Stunden nach der Injektion. Die Resultate des Versuches sind in der Tabelle No. 8 veranschaulicht:

Tabelle 8.

	Anzahl der Schaben	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	2	—	2
Kultur No. 2	2	—	2
Kultur No. 3	2	1	1
Kultur No. 4	2	1	1
Kultur No. 5	2	—	2
Summa	10	2	8

2. Versuch vom 12. April 1901.

Benutzt wurden 6 Schabenpartieen, zu zwei in jeder Partie, mit Ausnahme der 6., welche 4 Individuen enthielt. 5 Partieen wurden mit den oben aufgezählten Bakterienkulturen (No. 1, 2, 3, 4 und 5), die 6. aus 4 Individuen bestehende zur Kontrolle mit steriler Bouillon geimpft.

Leider gelang es nicht, die Resultate der Injektionen bei diesem Versuche zu verfolgen, weil von den 14 Versuchsschaben 9 Stück davonliefen. Es blieben 2 Schaben, welchen die Kultur No. 2, *Bacterium monachae* (Tubeuf), injiziert war; beide starben, eine nach 3 × 24 Stunden, die andere nach 5 × 24 Stunden; dann zwei mit dem *Bacillus flacheriae* (Kultur No. 1) injizierte Schaben; von diesen starb eine nach 3 × 24 Stunden, während die andere am Leben blieb. Schließlich starb eine von den mit der Kultur No. 5 injizierten nach 2 Tagen, während die andere davonlief.

Wegen der Unvollständigkeit dieses Versuches habe ich keine Tabelle aufgestellt.

3. Versuch vom 5. November 1901.

Im ganzen 7 Partieen zu 2 in jeder Partie, 5 Partieen wurden mit den Kulturen No. 1, 2, 3, 4 und 5, eine Partie mit steriler

Bouillon geimpft, einer anderen wurde einfach ein Einstich in das Abdomen mit der Spitze der Spritze gemacht. Somit hatte man 2 Kontrollpartieen zur Verfügung.

Es starben: 1 Schabe nach Injektion der Kultur No. 1. (*Bacillus flacheriae* Hofmann) in 2 Tagen, 2 nach Injektion der Kultur No. 3. (eine in 24 Stunden, die andere in 5 Tagen), und beide mit Bouillon injiziert (eine in 2 Tagen, die andere in 8 Tagen).

Tabelle 9.

	Gesamtzahl	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	2	1	1
Kultur No. 2	2	2	—
Kultur No. 3	2	—	2
Kultur No. 4	2	2	—
Kultur No. 5	2	2	—
Bouilloninjektion	2	—	2
Einstiche mit der Spritze	2	2	—

Bei dem 4. und 5. Versuche wurde der Injektionsmodus selber etwas abgeändert, und zwar wurde nicht mit der von mir aus einer Glaskanüle angefertigten, sondern mit der gewöhnlichen, durch 40 Minuten währendes Auskochen sterilisierten Pravaz-Spritze injiziert. Jeder Schabe wurde ein halber Teilstrich, also $\frac{1}{20}$ ccm Flüssigkeit injiziert. Außerdem wurden die Injektionen nicht ins Abdomen, sondern in das linke Beinchen des 3. Paares, in die Schiene, ausgeführt. Vor der Injektion wurde das linke Füßchen sorgfältig mit schwacher Sublimatlösung, Spiritus und sterilem Wasser abgerieben.

4. Versuch vom 24. November 1901.

Genommen wurden 3 Partieen Schaben; einer von diesen (3 Individuen) wurde eine 1-tägige Bouillonkultur (bei 30°) des Bakteriums No. 1, *Bacillus flacheriae* (Hofmann), der anderen (3 Individuen) eine gleiche Kultur des Bakteriums No. 3, der dritten (4 Individuen), zur Kontrolle, sterile Bouillon injiziert.

Es starben: Nach Injektion des Bakteriums No. 1, *Bacillus flacheriae*, 2 Schaben (beide in 5 Tagen), nach Injektion des Bakteriums No. 3. 2 (eine in 3 Tagen, die andere in 5 Tagen), nach Bouilloninjektion 3 Schaben (1 in 5 Tagen und 2 in 6 Tagen). In jeder Partie blieb je eine am Leben.

Tabelle 10.

	Anzahl der Versuche	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	3	1	2
Kultur No. 3	3	1	2
Bouillon	4	1	3

Aus dem 3. und 4. Versuch ersieht man, daß es unmöglich ist, zu entscheiden, wovon die Schaben nach Injektionen von Bouillonkulturen absterben, ob von Bakterien oder von Bouillon,

weil die nur mit Bouillon injizierten Kontrollschaben ebenfalls hinstarben.

5. Versuch vom 4. Januar 1902.

Bei diesem Versuch wurden nicht 1-tägige, sondern alte, 4-wöchige Bouillonkulturen verwendet, in der Erwartung, daß bei Injektionen alter Kulturen bereits fertige Toxine eingeführt wurden, und daß auf diese Weise der Unterschied zwischen einer Injektion eines für die Schabe faktisch pathogenen und nicht pathogenen Bakteriums schärfer hervortreten könne.

Zu diesem Versuche wurden 5 Parteen Schaben, zu 5 Stück in jeder Partie, verwendet. Injiziert wurden 5 Bakterienarten, die Kulturen No. 1, 2, 3, 4 und 5.

Davon starben nach Injektion der Kultur No. 1, *Bacillus flacheriae* (Hofmann), 3 Schaben (1 in 4 Tagen, 1 in 5 Tagen, 1 um 24 Stunden später), nach Injektion der Kultur No. 2, *Bacterium monachae* (Tubef), starben alle 5 (3 in 4 Tagen, 2 in 5 Tagen), nach Injektion der Kultur No. 3. 4 Schaben (3 in 4 Tagen, 1 in 5 Tagen), der Kultur No. 4. 2 Schaben (in 6 Tagen), der Kultur No. 5. starben alle (3 in 5 Tagen, 2 in 6 Tagen).

Tabelle 11.

	Im ganzen geimpft mit	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	5	2	3
Kultur No. 2	5	—	5
Kultur No. 3	5	1	4
Kultur No. 4	5	2	3
Kultur No. 5	5	—	5

Aus den Resultaten der geschilderten Versuche ist uns schwer zu ersehen, daß ihre Anordnung eine fehlerhafte war. Keineswegs durfte man Schaben Bouillonkulturen injizieren, denn wie aus den Versuchen hervorgeht, ist die Bouillon an und für sich eine für den Organismus der Schabe durchaus nicht indifferente Substanz, infolgedessen es unmöglich ist, zu ergründen, welchen Einfluß eine Einverleibung einer Bakterienkultur auf die Schabe ausübt. Der 5. Versuch, Injektionen alter Kulturen, trug auch wenig zur Klärung dieser Frage bei: Ihre toxische Wirkung kam in keiner Weise zum Vorschein, die Mortalität war dieselbe wie vordem, und der Termin des letalen Ausganges wurde durchaus nicht kürzer. Aus diesem Grunde beschloß ich, den Infektionsmodus zu verändern, keine Bouillonkultur, sondern eine Kultur auf festem Nährboden (Agar-Agar) einzuverleiben.

6. Versuch vom 24. November 1901.

4 Parteen Schaben zu 3 in jeder Partie. 2 Parteen wurden mit Bakterien geimpft; eine Partie mit einer 1-tägigen Agarkultur No. 1, *Bacillus flacheriae*, in das linke Beinchen des 3. Paares, in die Schiene. Die Agarkultur wurde auf das Ende eines sterilen Platindrahtes genommen, die zur Einführung der Kultur ins Blut erforderliche Fußwunde durch Einstich mit dünner, steriler

Stahlnadel vorbereitet. Der mit der Kultur bestrichene Platindraht wurde in die Wunde eingeführt und verblieb dort 3—4 Sekunden. Auf ganz dieselbe Weise wurde die 2. Schabenpartie geimpft, und zwar mit der Kultur No. 3 (ebenfalls 1-tägige, bei 30°) Agarkultur. Der 3. Partie wurden zur Kontrolle mit steriler Nadel Einstiche in das Füßchen gemacht und danach in die Wunde ein steriler Platindraht eingeführt. Der 4. Partie injizierte ich in das 3. linke Füßchen mit der Pravaz-Spritze physiologische Kochsalzlösung. Es wurde ein halber Teilstrich der Spritze, d. h. $\frac{1}{20}$ ccm Flüssigkeit eingeführt.

Die Impfungen wurden unter allen Kautelen vor Verunreinigung ausgeführt.

Die mit dem Bakterium No. 3 geimpften Schaben starben alle (1 in 2 Tagen, die andere in 5 Tagen, die 3. in 6 Tagen). Aus dem Blute der zuerst gestorbenen machte ich Aussaaten auf Platten, aus diesen Uebertragungen auf verschiedene Nährmedien, welche den Beweis lieferten, daß in dem Blute der gestorbenen Schabe eine Reinkultur des Bakteriums No. 3 enthalten war.

Nach der Impfung mit der Kultur No. 1, *Bacillus flacheriae*, starben auch sämtliche Schaben (1 in 24 Stunden, 2 in 2 Tagen). Aus dem Blute der zuerst gestorbenen wurden Aussaaten auf Platten gemacht und ein mikroskopisches Präparat angefertigt. Es erwies sich, daß in ihrem Blute eine unreine Bakterienkultur enthalten war. Nach einer Ausscheidung erhielt ich zwei Reinkulturen, das Bakterium No. 1, *Bacillus flacheriae*, und das Bakterium No. 6, welche ich oben beschrieben habe.

Man muß annehmen, daß die Schabe schon vordem von dem Bakterium No. 6. infiziert war.

Tabelle 12.

	Geimpft mit	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	3	—	3
Kultur No. 3	3	—	3
Kontrolleinstiche	3	3	—
Phys. NaCl-Lösung	3	3	—

Die Resultate des Versuches sind klar; sämtliche mit Bakterien geimpfte Schaben sind gestorben, alle Kontrollschaben blieben am Leben. Mit anderen Worten, Injektionen physiologischer Kochsalzlösung und Einstiche in die Füßchen sind für Schaben unschädlich. Impfungen mit den Bakterien No. 1. und No. 3. sind für Schaben tödlich.

7. Versuch vom 6. Januar 1902.

Da es sich nun aus dem vorigen Versuch herausstellte, daß Injektionen von physiologischer Kochsalzlösung für Schaben durchaus nicht schädlich seien, so begann ich, bei den weiteren Versuchen die Bakterienkulturen aus festen Nährböden mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt zu injizieren. Injiziert wurde in das linke Füßchen des dritten Paares mit einer Pravaz-Spritze

eine 1-tägige (bei 30° im Thermostaten) mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu leichter Trübung aufgeschwemmte Agarkultur. Eingespritzt wurde jedesmal $\frac{1}{20}$ ccm Flüssigkeit.

Genommen wurden 7 Partien Schaben.

Der ersten Partie (5 Individuen) wurde das Bakterium No 1, *Bacillus flacheriae* (Hofmann) injiziert, der zweiten Partie (5 Individuum) das Bakterium No. 2, *Bacterium monachae* (Tubef), der dritten Partie (5 Individuen) das Bakterium No. 3, der vierten Partie (4 Individuen) das Bakterium No. 4, der fünften Partie (4 Individuen) das Bakterium No. 5, der sechsten Partie (5 Individuen) das Bakterium No. 6, der siebenten Partie (5 Individuen) wurden Kontrollinjektionen mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht.

Sämtliche Schaben der ersten Partie starben in 24 Stunden. Aussaaten aus ihrem Blute auf Platten und Umimpfungen aus letzteren auf diverse Nährmedien, sowie auch mikroskopische Präparate bewiesen, daß in dem Blute eine Reinkultur des Bakteriums No. 1, *Bacillus flacheriae*, enthalten war. Die Schaben der zweiten Partie (Injektion des Bakteriums No. 2) starben ebenfalls alle in 24 Stunden, und in ihrem Blute war ebenfalls eine Reinkultur des injizierten Bakteriums. Die Schaben der dritten Partie (Bakterium No. 3) starben in 24 Stunden, in ihrem Blute war ebenfalls eine Reinkultur des Bakteriums No. 3. Die Schaben der vierten Partie (Bakterium No. 4) starben alle (1 in 2 Tagen, 1 in 3 Tagen, 2 in 5 Tagen). In ihrem Blute war ebenfalls eine Reinkultur des injizierten Mikroben. Die Schaben der fünften Partie (Bakterium No. 5) starben alle (2 in 2 Tagen, 1 in 3 Tagen, 1 in 4 Tagen). In ihrem Blute war eine Reinkultur des Bakteriums No. 5. Die Schaben der sechsten Partie starben alle in 24 Stunden. In ihrem Blute war ebenfalls eine Reinkultur des Bakteriums No. 6. Die Schaben der siebenten Partie, die zur Kontrolle, blieben alle am Leben.

Tabelle 13.

	Geimpft mit	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 1	5	—	5
Kultur No. 2	5	—	5
Kultur No. 3	5	—	5
Kultur No. 4	4	—	4
Kultur No. 5	4	—	4
Kultur No. 6	5	—	5
Injektion phys. NaCl-Lösung	5	5	—

Aus diesem Versuch ersieht man, daß alle Bakterien, mit welchen ich experimentierte, bei Injektion ins Blut der Schabe zum Tode führen, während eine Injektion physiologischer NaCl-Lösung, ebenso wie die im vorigen Versuch, sich als unschädlich erwies. Eine Kultur aus festem Nährmedium besitzt scheinbar eine stärkere Virulenz als Bouillonkulturen. Die ersteren führten,

wie die Tabellen zeigen, stets zum Tode, während nach Injektionen von Bouillonkulturen die Schaben nicht selten am Leben blieben.

8. Versuch am 13. März 1902.

Der Versuch wurde nur mit dem Mikroorganismus No. 6 ausgeführt. Verwendet wurde eine 1-tägige (bei 30°), bis zu leichter Trübung mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Agarkultur; in das linke Hinterfüßchen wurde $\frac{1}{20}$ ccm Flüssigkeit eingespritzt. Dem Versuch unterlagen 2 Partien Schaben zu 5 in jeder. Der einen Partie wurde die Kultur, der anderen physiologische NaCl-Lösung injiziert. Eingespritzt wurde die gleiche Menge Flüssigkeit.

Die mit der Bakterienkultur geimpften Schaben starben alle (3 in 24 Stunden, 2 in 2 Tagen). In ihrem Blute war, wie Aussaaten auf Platten und mikroskopische Präparate erwiesen, eine Reinkultur des injizierten Bakteriums. Von dem mit physiologischer NaCl-Lösung injizierten Schaben starb nur 1 in 3 Tagen. Ich injizierte sofort noch 5 Schaben mit physiologischer NaCl-Lösung; sie alle blieben am Leben und waren gesund.

Tabelle 14.

	Geimpft mit	Am Leben geblieben	Gestorben
Kultur No. 6	5	—	5
Phys. NaCl-Lösung	10	9	1

Die einzige nach der Kontrollinjektion mit physiologischer Kochsalzlösung gestorbene Schabe ist augenscheinlich blinder Zufall.

9. Versuch vom 7. Februar 1902.

Bei diesem Versuch prüfte ich die Wirkung noch zweier Bakterienarten auf Schaben, und zwar war die eine eine *Sarcina* (höchstwahrscheinlich *flava*), die andere einer von den gewöhnlichen saprophytischen Kokken¹). Geimpft wurden 2 Partien Schaben, zu 6 in jeder. Kontrollinjektionen mit physiologischer NaCl-Lösung wurden nicht vorgenommen.

Die mit dem *Coccus* geimpften starben alle (in Zeiträumen von 2—6 Tagen). Die mit *Sarcina* infizierten Insekten starben ebenfalls alle (in 2—5 Tagen).

Somit erwiesen sich alle von mir zu Injektionen gewählten 8 Bakterienspecies für Schaben pathogen. Ein nichtpathogenes Bakterium ausfindig zu machen gelang mir nicht.

10. Versuch am 29. März 1902.

Dieser Versuch wurde angestellt, um einigermaßen die Frage über Steigerung der Virulenz einer Bakterienspecies nach Passage durch den Insektenleib im Vergleich zu einer Kultur, welche lange Zeit auf gewöhnlichen Nährmedien vegetierte, aufzuklären.

Dazu wurden 2 Partien zu 5 Schaben zu jeder genommen. Einer Partie wurde je $\frac{1}{2}$ Teilstrich einer Pravaz-Spritze, d. h.

¹) Zu den Injektionen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte, eintägige Agarkulturen (bei 30° im Thermostaten) verwendet.

$\frac{1}{20}$ ccm einer eintägigen Agarkulturaufschwemmung des Bakteriums No. 6, welches bis dahin im Verlauf eines halben Jahres auf künstlichen Nährböden kultiviert wurde, injiziert. Der anderen Partie wurde möglichst die gleiche Menge einer eintägigen Agarkultur desselben Bakteriums, aber nach einigen Tagen vor dem Versuch erfolgter Passage durch den Schabenleib injiziert. Die Resultate des Versuches sind in der Tabelle 15 verzeichnet:

Tabelle 15.

	Geimpft mit	Gestorben		
		In 18 Std.	In 24 Std.	In 36 Std.
Alte Kultur	5	—	2	3
Kultur nach Passage d. den Schabekörper	5	3	2	—

Somit spricht das erzielte Resultat scheinbar dafür, daß eine Bakterienkultur nach Passage durch den Insektenkörper mehr virulent ist, als eine Kultur, welche lange Zeit auf künstlichem Nährboden vegetiert hat.

Schließlich will ich noch die Versuche beschreiben, welche eine Infektion durch Fütterung mit infiziertem Futter hervorzurufen zum Zweck hatten.

Ich versuchte, Schaben mit Bouillonkulturen und einmal mit einer Agarkultur zu füttern, aber sämtliche Versuche führten zu einem negativen Resultat, die Schaben wurden nicht infiziert.

1. Versuch vom 12. April 1901.

Genommen wurden 5 Parteen, je 2 Schaben in jeder. Zu Beginn des Versuches bekamen sie in eintägigen (bei 30°) Bouillonkulturen der Bakterien No. 1, 2, 3, 4 und 5 getränktes Brot. Nach 2 Tagen wurden alle Schaben in frische Bouillonkulturen derselben Bakterien gebracht. Dabei konnte man beobachten, wie eifrig sie einander ableckten¹⁾. Von allen diesen Schaben starb nur eine nach 8 Tagen, aus der mit der Kultur No. 5 gefütterten Partie.

2. Versuch am 5. November 1901.

Genommen wurden 6 Parteen, je 2 Schaben in jeder. Uhrgläschen wurden mit eintägigen Bouillonkulturen derselben Bakterien, wie im Versuch No. 1, gefüllt. Für die 6. Partie war ein Uhrgläschen zur Kontrolle mit steriler Bouillon gefüllt. Für jede Partie war Brot hingelegt und andere Uhrgläschen mit Wasser gefüllt. Die Bouillonkulturen wurden jeden anderen Tag während einer Woche durch frische ersetzt, Brot und Wasser täglich im Verlauf von 3 Wochen gewechselt.

In diesem Zeitraum starben nur 2 Schaben, eine aus der Kontrollpartie, welche sterile Bouillon bekam, und noch eine, aus derjenigen Partie, welche die Bouillonkultur des Bakteriums No. 3 bekam.

¹⁾ Jede Partie saß in einer aparten Schachtel, so daß sie sich mit einer Bakterienkultur infizieren konnten.

3. Versuch vom 24. November.

Benutzt wurden 4 Schaben; sie bekamen eine 1-tägige (bei 30°) Bouillonkultur des Bakteriums No. 3. in einem Uhrgläschen, und mit 1-tägiger (bei 30°) Agarkultur desselben Bakteriums wurde Brot bestrichen. Die Bouillonkultur wurde einige Male gewechselt. Ich beobachtete diese Schaben 4 Wochen lang, aber keine von ihnen starb.

4. Versuch vom 12. April 1902.

Genommen wurden 6 Schaben; Brot wurde mit 1-tägiger Agarkultur des Bakteriums No. 6. bestrichen. Die Schaben blieben am Leben und gesund, obgleich sie das infizierte Brot fraßen. Ich beobachtete sie bis zum 10. Mai.

Derartig sind die Ergebnisse der Versuche des ersten Teiles meiner Arbeit. Gestützt auf dieselben, will ich einige Schlüsse ableiten:

1) Seidenraupen und Schaben verhalten sich bei weitem nicht in gleicher Weise zur bakteriellen Infektion. Für die Schaben erwiesen sich sämtliche 8 Bakterien, mit welchen ich experimentierte, bei Einführung ins Blut als unter allen Umständen pathogen. Jede Injektion einer Agarkultur hatte den Tod der Schabe zur Folge. Für die Seidenraupe war von 5 geprüften Bakterien nur eine Species entschieden pathogen, und zwar das Bakterium No. 1, *Bacillus flacheriae* (Hofmann); 2 Bakterienarten: No. 2, *Bacterium monachae* (Tubef), und No. 4. waren für den Organismus der Raupe ganz indifferent; 2 Bakterien: No. 3. und No. 5, führten bisweilen zum Tode, mitunter aber bewältigte der Organismus der Raupen die Infektion.

Ist einmal das eine oder andere Bakterium ins Blut einer Schabe gelangt, so ist der Organismus derselben im Kampfe mit jenem hilflos; demgegenüber ist die Seidenraupe im Besitze gewisser Abwehrmittel, denn im Kampfe mit den einen Bakterien geht die Seidenraupe, im Kampfe mit anderen gehen diese letzteren als Sieger hervor. In Bezug auf die Seidenraupen können wir die Bakterien in pathogene und nicht pathogene einteilen. Die Pathogenität kann in verschiedenem Grade ausgeprägt sein.

Was den Organismus der Küchenschabe anbelangt, so muß man einstweilen annehmen, daß scheinbar alle Bakterien, falls sie in das Blut der Schabe gelangt sind (bei Injektion einer Kultur aus festem Nährboden), für denselben pathogen sind. Die Ursache eines so verschiedenen Verhaltens gegen bakterielle Infektion seitens der Schabe und der Seidenraupe scheint in dem Umstande zu liegen, daß der Schabenleib mit einer sehr festen Chitinschicht bedeckt ist; ebenso ist der Darmkanal mit Chitin ausgekleidet, infolgedessen Fälle von Bakterieneinwanderung in den Schabenkörper höchst selten sein müssen, weswegen für dieses Insekt auch keine Notwendigkeit vorlag, irgendwelche Abwehrmittel auszubilden.

Ganz anders verhält es sich bei der Seidenraupe, welche mit einer dünnen, leicht reißenden Cuticula bedeckt ist; bei dieser müssen Fälle von Verwundung sehr häufig sein; häufig müssen

auch Fälle von Bakterieneinwanderung in ihren Organismus vorkommen. Es ist verständlich, daß die Seidenraupe Schutzmittel gegen Infektion ausbilden mußte, und folglich wird auch ihr Verhalten gegen diverse Bakterien ein verschiedenes sein. Mit den einen Bakterien wird sie leicht fertig werden, gegen andere wiederum werden sich die Schutzmittel als unzulänglich erweisen, und diese Bakterien werden für sie pathogen sein.

2) Die Versuche, Schaben durch Fütterung zu infizieren, blieben erfolglos. Ein und dieselben Bakterien führen, ins Blut eingebracht, zum Tode der Schabe, während sie, in den Darmkanal eingeführt, nicht die geringste Wirkung entfalten.

3) Injektionen physiologischer Kochsalzlösung sind unschädlich sowohl für Raupen als auch für Schaben.

4) Injektionen von Fleischpeptonbouillon sind für Raupen unschädlich, aber bei Schaben folgt darauf bisweilen der Tod.

5) Entgegen den Balbianischen Beobachtungen, habe ich fast gar keine Todesfälle nach Injektion von Bakterienkulturen bei Erscheinungen der Flascherie gesehen. Ebenso sind nach Kowalewski und Balbiani die Orthoptera die resistentesten unter den Insekten im Kampfe gegen die Infektion. Bei den Schaben habe ich das Gegenteil beobachtet. Nach meinen Versuchen sind sie gar nicht im stande, sich gegen die Infektion zu wehren, und folglich muß man wenigstens von einem Vertreter der Orthoptera annehmen, daß er im Kampfe mit Bakterien im höchsten Grade widerstandslos sei.

An dieser Stelle kann ich nicht umhin, zu bedauern, daß ich einen Versuch unterlassen habe, und zwar eine Impfung von Schaben mit abgetöteten Bakterienkulturen. Die Sache ist nämlich die, daß bezüglich meiner Versuche an Schaben der Verdacht erwachen kann, ob nicht auf den Organismus der Schabe die Kulturflüssigkeit mit den in derselben suspendierten Eiweißkörperchen der Mikroben an und für sich, ganz unabhängig von den physiologischen Pathogenitätsverhältnissen der betreffenden Mikroben, verderblich eingewirkt hat. Hier war nur ein Kontrollversuch notwendig, welchen ich unterlassen habe. Doch läßt sich hier eine physiologische Wirkung der Mikroben nicht abstreiten, wenn man die in dem zweiten Teile meiner Arbeit angeführten Entwicklungsbilder dieser Mikroben im Schabenblute in Betracht zieht.

II.

In dem zweiten Teile meiner Arbeit halte ich denselben Plan ein, wie in dem ersten: Anfangs kommt eine Literaturübersicht über die Frage des Schicksals der Bakterien in dem Organismus der Insekten und darauf eine Schilderung meiner eigenen Versuche.

Ausführliche Arbeiten über das Schicksal der Bakterien im Insektenleibe, in denen ihr Aufenthaltsort, und, was mit ihnen vorgeht, Schritt für Schritt verfolgt wäre, gibt es nicht. Sämtliche derartige Arbeiten haben nur höhere Tiere zum Gegenstande. Deshalb werde ich mich auf einen Bericht über wenige unvollständige Arbeiten, in denen irgendwelche diesbezügliche Angaben vorhanden sind, beschränken müssen. Solche Arbeiten haben wir größtenteils

den Zoologen zu verdanken. Dort wird hauptsächlich die Frage behandelt, von welchen Organen die Bakterien festgehalten werden und was das in morphologischer Beziehung für Organe sind. Die Zoologen machten Injektionen vornehmlich mit Farben und, falls sie Bakterien injizierten, so beachteten sie nicht, daß das betreffende Bakterium für den Organismus der Insekten pathogen sei.

Die zeitlich erste Arbeit gehört Balbiani: „Etudes bactériologiques sur les Arthropodes“ (38). Balbiani impfte verschiedene Insekten mit diversen saprophytischen Bakterien. Die einen Insekten starben, die anderen blieben am Leben. Durch die größte Widerstandskraft gegen die Infektion zeichneten sich die Orthoptera aus. Bei diesen wurden die Bakterien von den Zellen des perikardialen Gewebes und Leukocyten festgehalten und verdaut.

In der Krasilschtschik'schen Arbeit: „Sur deux maladies contagieuses des larves des Lamellicornia, causées par les bactéries“ (39) wird über das Schicksal der Bakterien in dem Organismus dieser Käfer folgendes ausgesprochen: Bei Infektion mit dem *Bacillus graphitosis* dringen die Bakterien in das Blut ein; nach Verlauf von 40—50 Stunden sammeln sie sich an den Tracheen an und verstopfen sie. Weiter dringen sie in die Malpighischen Röhren ein. Nach dem Tode des Insektes schwinden die Bakterien aus dem Blute und überfallen die Zellen des Fettkörpers. Im Hypodermis, in den Nervenzellen und im Darmkanal finden sich niemals Mikrobien. In den perikardialen Zellen findet man sie nur nach dem Tode des Insektes.

Der *Septikämiebacillus* vegetiert die ganze Zeit nur im Blute der *Lamellicornia*-Larven.

Krasilschtschik spricht nichts darüber, ob er Phagocytose beobachtet hat. Wahrscheinlich gab es keine Phagocytose, denn beide oben genannten Bakterien sind für Käfer sehr pathogen.

Das Metschnikoff'sche Werk: „Immunité dans les maladies contagieuses“ (40) enthält eine Beschreibung des Schicksals von Bakterien, welche der Larve des für Anthrax unempfindlichen und für Cholera empfindlichen Käfers *Oryctes nasicornis* injiziert worden waren. Nach Injektion von Anthraxbacillen entsteht innerhalb 24 Stunden im Blute lebhaftere Phagocytose — Bakterienverzehrung durch Leukocyten. Die Leukocyten greifen die Cholera-vibrionen nicht an; letztere vermehren sich stark und führen schließlich zum Tode des Insektes (p. 140—141).

Die Kowalewskische Arbeit: „Etudes expérimentales sur les glandes lymphatiques des Invertébrés“ (41) enthält eine Beschreibung von Injektionen, welche der Autor an verschiedenen Vertretern der Arthropoda und Mollusca ausgeführt hat. Ich will nur den Teil der Arbeit wiedergeben, welcher sich mit den Insekten beschäftigt. Zu den Injektionen wurden benutzt: *Bacillus anthracis* (asporogene Rasse), *Bacillus prodigiosus* und *Bacillus subtilis*.

Von Insekten injizierte Kowalewski Bakterienkulturen vornehmlich den Orthoptera. Alle von ihm verwendeten Bakterien waren pathogen, hatten Krankheit und Tod zur Folge. Die Bakterien wurden von dem perikardialen Strange, welcher zwischen

der Perikardialhöhle und der allgemeinen Körperhöhle gelegen ist, festgehalten. Sie schwanden schnell aus dem Blute, festgehalten von dem oben genannten perikardialen Strange, „la rate“ — so nennt Kowalewski dieses Organ der Wirbellosen, welches der Milz der Wirbeltiere entspricht. Er ist der Ansicht, daß der perikardiale Strang phagocytäre Eigenschaften besitzt. Bei verschiedenen Vertretern der Orthoptera ist dieses Organ verschieden konstruiert.

Bei *Truxalis* befindet sich ein Strang von Phagocytenzellen nur in den ersten Bauchsegmenten. Bei *Gryllus* dienen als Phagocyten 2 symmetrisch zu beiden Seiten des Herzens gelegene Stränge. Nach den Beobachtungen von Kowalewski nehmen diese energisch pulverförmiges Karmin in sich auf, während die eigentlichen perikardialen Zellen dieses nur sehr schwach tun. Hier muß bemerkt werden, daß außer den Bakterieninjektionen Kowalewski auch feste, pulverförmige Substanzen injizierte, wobei er diejenigen Organe als phagocytäre betrachtete, welche sowohl pulverförmige Substanzen als auch Bakterien festhielten. Bei den Grillen besteht die „rate“ aus 4 symmetrisch zu Seiten des Herzens gelegenen und mit ihm in Verbindung stehenden Strängen.

Impfungen mit *Bacillus tuberculosis avium* und *Bacillus anthracis* waren für die Grillen tödlich.

In dieser Arbeit ist Kowalewski der Ansicht, daß nur das perikardiale Gewebe phagocytäre Fähigkeit besitze. Dieselbe Meinung äußert er auch in einer anderen, ebenfalls im Jahre 1894 erschienenen Arbeit: „Untersuchungen über das Lymphsystem der Insekten und Tausendfüßer“ (42).

Das Lymphsystem der Locustidae ist in der von der allgemeinen Körperhöhle durch eine besondere Zwischenwand abgetheilten Perikardialhöhle gelegen. Das Lymphsystem besteht aus Perikardialzellen zweierlei Art, aus einer großen, welche das Stroma des Gewebes bilden, und kleinen, welche den Leukocyten ähnlich sind. Die Zellen der zweiten Art, waren diese allein, besitzen phagocytäre Eigenschaften.

Etwas früher, und zwar im Jahre 1892, war Kowalewski ganz entgegengesetzter Meinung über die Bedeutung der perikardialen Zellen. In einem dem internationalen Zoologenkongresse in Moskau erstatteten Berichte: „Sur les organes excréteurs chez les Arthropodes terrestres“ (43), welcher anatomische, physiologische und entwicklungsgeschichtliche Daten über die Exkretionsorgane der Wirbellosen enthält, gelangt Kowalewski bei Besprechung des Exkretionssystems der Insekten zu dem Schlusse, daß bei diesen die Exkretionsorgane aus zwei einander gegenseitig ergänzenden Organgruppen bestehen. Die Absonderung von Uraten geschieht durch die Blinddarmfortsätze, die Malpighischen Röhren, welche die Fähigkeit besitzen, Indigokarmin auszuschcheiden und von alkalischer Reaktion sind; als sezernierende Zellen mit saurer Reaktion figurieren hier die Perikardialzellen; diese sind z. B. im stande, karminsaures Ammonium aufzunehmen und in Form von Körnchen aufzuspeichern. Die Malpighischen Röhren

sezernieren Indigokarmin in Kristallform in das Lumen der Kanälchen. Die Zellen des sekretorischen Systems beider Gruppen desselben vermögen nur Flüssigkeiten aufzunehmen, deshalb haben sie keine phagocytäre Fähigkeit: „Je n'ai jamais eu l'occasion de remarquer, que les cellules péricardiales absorbassent les corps durs“ (p. 201).

Injiziert man Insekten pulverförmiges neutrales Karmin, so sieht man, daß es von den Leukocyten verzehrt wird, sich in ihnen aufspeichert und zum Herzen geführt wird, wodurch bei oberflächlicher Betrachtung der Eindruck gewonnen wird, daß die Perikardialzellen das Karmin aufgenommen und in sich aufgespeichert haben, was aber nicht richtig ist. Bei Injektion von Milch beobachtete Kowalewski, daß die Fettkügelchen von den Leukocyten, sowie auch von den Vermehrungszentren derselben verdaut wurden. Die Vermehrungszentren der Leukocyten sind auf den „brides du corps adipeux“ gelegen (p. 201).

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Eine einfache elektrische Heizung für Brutkasten.

(Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Molkereischule Rütli [Schweiz].)

Von **A. Peter.**

Mit 1 Figur.

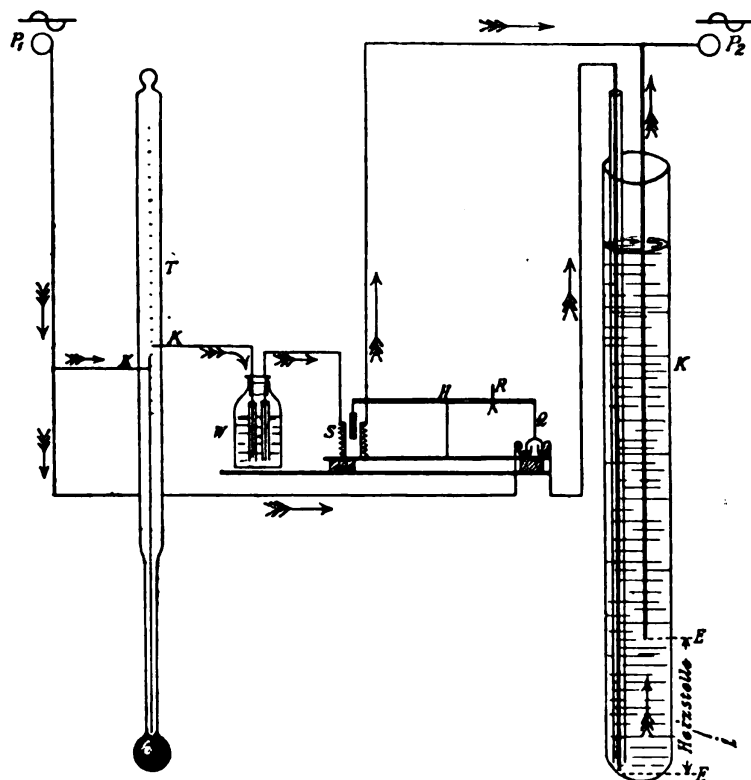
Da man an kleineren Orten eher elektrische Kraft als Gas zur Verfügung hat, gewinnt die elektrische Heizung von Brutkasten an Bedeutung. Dies um so mehr, als auch das Billigerwerden der Energie selbst an Orten mit Gasanstalten die Einführung der mit dieser Heizmethode verbundenen Annehmlichkeiten gestattet.

Ich habe mir für mein Laboratorium folgende Einrichtung selbst angefertigt.

Von der Stromzuführungsklemme P_1 geht ein Stromzweig nach dem Kontakthermometer T und wenn das Thermometer hoch genug steht, weiter in den Flüssigkeitswiderstand W . Dieser ist nichts anderes als eine Flasche mit Kupfervitriollösung, in welche zwei Kupferdrähte als Elektroden tauchen. Die Drähte sind, soweit sie in die Flüssigkeit tauchen, in beidseitig offene Glasröhrchen geführt, damit der Widerstand noch erhöht wird. Sodann geht der Strom nach dem Solenoid S , das aus dünnem Draht gewickelt ist, um möglichst viel Widerstand zu bieten. Eventuell könnte dieses Solenoid so gewickelt werden, daß gar kein Widerstand vorgelegt werden muß. Den Widerstand W kann man durch stärkere oder schwächere CuSO_4 -Lösung oder durch verschiedenes Eintauchen der Elektroden beliebig regulieren. Das Solenoid setzt den Hebelapparat H in Bewegung. Der leicht drehbare Hebel trägt nämlich einerseits an einem Faden ein Stück weiches Eisen, das in die Spule hineingezogen wird, andererseits ist daran eine Gabel aufge-

hängt, welche die Quecksilbernäpfe Q verbinden kann. Der Hebel wird nun mit dem Reiter R so belastet, daß er leicht Uebergewicht nach Q bekommt, die Näpfe also verbunden werden. Sobald aber das Solenoid Strom erhält, so wird selbstverständlich das Eisen eingezogen und die Verbindung Q unterbrochen.

Der Heizkörper K besteht aus einer weiten, unten geschlossenen Glasröhre, in welche eine beidseitig offene, engere Glasröhre geschoben ist. In diese Glasröhren, welche konzentrierte CuSO_4 -Lösung enthalten, sind zwei (2–3 mm) dicke Kupferdrähte als Elektroden eingeschoben. Sofern der Kontakt Q hergestellt ist, geht der Strom zwischen EE durch die Flüssigkeit. Da Wechselstrom angewendet wird, wird die Lösung nicht zersetzt, sondern die Energie vollständig in Wärme verwandelt. Die Stromstärke kann durch stärkeres Eintauchen der äußeren Elektrode beliebig vergrößert werden. Diesen Heizkörper, sowie das Kontaktthermo-



meter bringt man nun in das Wasserbad des Brutkastens, womit die Sache zu spielen beginnt.

Es ist nämlich leicht einzusehen, daß, sobald das Thermometer hoch genug steht (der Strom also durch die Spule kann), der Heizstrom durch den Hebel ausgeschaltet wird, bis durch Sinken des Quecksilbers im Thermometer der Solenoidstrom unterbrochen wird. Die Kontakte T und Q sind also abwechselnd hergestellt und unterbrochen.

Der Kontaktthermometer stammt von der Firma Lautenschläger, Berlin und kann beliebig eingestellt werden. Den Hebelapparat mit der Spule kann jeder Mechaniker leicht herstellen, provisorisch kann man die Sache von Holz sogar selbst machen. Der Widerstand W bietet ebenfalls keine Schwierigkeiten, event. kann man als solchen auch einen zweiten, aber viel kleineren Heizkörper K benutzen. Dies hat dann noch den Vorteil, daß die im Widerstand erzeugte Wärme ebenfalls dem Brutapparat zu gute kommt.

In dieser Anordnung geht die Sache jedoch nur für Wechselstrom. Für Gleichstrom müßte man den Widerstand W aus Nickelindraht machen und als Heizkörper ebenfalls einen Drahtwiderstand gebrauchen. Für Brutkasten ohne Wasserfüllung eignet sich als Heizkörper auch sehr gut eine gewöhnliche 10—40-kerzige Glühlampe, die man mit Asphaltlack dunkel macht und in den gut wärme-geschützten Kasten hineinstellt.

In meinem Laboratorium sind seit 6 Monaten zwei solche Apparate, einer mit Wasserfüllung und einer mit der Glühlampe geheizt auf 37,5 bzw. 25° C erwärmt, ohne die geringste Störung und mit größter Exaktheit. Da die Brutkasten von allen Seiten sehr gut gegen Wärmeverlust geschützt werden können, ist der Energieverbrauch ein sehr geringer. Bei Zimmertemperatur ließ sich für den Brutkasten von 37,5° C ein Energieverbrauch von 35 Pf. für 24 Stunden berechnen, dies bei einem Preis der elektrischen Energie von 40 Pf. per KW - Stunde. Der Strom hat eine Spannung von 150 Volt.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Appel, Otto und Strunk, H. F., Ueber einige in Kamerun auf Theobroma cacao beobachtete Pilze. (Schluß), p. 632.

Beijerinck, M. W., Ueber die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können, p. 593.

Filatoff, E. D., Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Orga-

nismus der Bombyx mori (L.) und der Periplaneta orientalis (L.) bei artifizierlicher Infektion derselben, p. 658.

Harrison, F. C. and Connell, W. T., A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures, p. 637.

Peter, A., Eine einfache elektrische Heizung für Brutkasten, p. 686.

Utz, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch, p. 600.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/31

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XI. Band.

Jena, den 25. März 1904.

No. 23.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

**Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologi-
schen etc. Instituten, Laboratorien etc.**

Nachdruck verboten.

Aus dem bakteriol. Institute der polytechn. Schule in Delft.

**Die Zersetzung von Cellulose durch aërobe Mikro-
organismen¹⁾.**

Von C. van Iterson jr.

Mit 1 Tafel.

Die großen Quantitäten Cellulose, welche fortwährend mit ab-
gestorbenen Blättern und Zweigen, Papier, Leinwand, Tauwerk etc.
in den Boden kommen, verschwinden darin, wie die Erfahrung
lehrt, ziemlich rasch und beinahe vollkommen. Diese Vernichtung

¹⁾ Verslagen der koninklijke Akademie van Wetenschappen 1903. Deel XI.
blz. 807.

der Cellulose kann auf zwei sehr verschiedene Weisen vor sich gehen, anaërob und aërob.

Die anaëroben Prozesse zerfallen in 2 Gruppen:

a) Ohne Anwesenheit von Salpeter kann Cellulose durch echte anaërobe Bakterien zersetzt werden, wobei Wasserstoff und Kohlensäure oder Methan und Kohlensäure frei werden, während Essigsäure und Buttersäure sich bilden. Dies sind die Wasserstoff- und Methangärung, und diese Prozesse allein wurden bis heute studiert und ihnen ausschließlich wurde die Vernichtung der Cellulose in der Natur zugeschrieben.

b) Bei Anwesenheit von Salpeter kann Cellulose zersetzt werden durch denitrifizierende Bakterien, und zwar nach folgenden Formeln:



Die hierbei wirksamen Bakterien wirken zwar ohne oder bei geringem Luftzutritt, sie sind aber selbst aërob.

Auch bei der aëroben Zersetzung der Cellulose kann man 2 Fälle unterscheiden:

a) Ist das Medium, worin die Cellulose sich befindet, schwach alkalisch, so spielen bei der Zersetzung gewöhnliche aërobe Bakterien die Hauptrolle.

b) Ist das Medium jedoch schwach sauer, so sind dabei Pilze und Mycelien von höheren Fungi wirksam.

Wir werden hier diese letzten 3 Fälle, worin also die Zersetzung durch aërobe Mikroorganismen geschieht, näher betrachten.

1. Die Zersetzung von Cellulose durch denitrifizierende Bakterien.

Eine frühere Untersuchung über denitrifizierende Bakterien gab mir Anleitung, nachzuforschen, ob auch Cellulose als Kohlenstoffquelle bei der Denitrifikation dienen kann, und es stellte sich heraus, daß dies wirklich der Fall war.

Als Cellulose wurde gewöhnlich schwedisches Filterpapier gebraucht, das mit Leitungswasser zu einem Papierbrei, welcher 2 Proz. Cellulose enthielt, zerrieben wurde. Die geringen Verunreinigungen, welche dieses Papier enthielt, waren für meine Untersuchungen von keiner Bedeutung, da die Zersetzung beurteilt wurde nach den Veränderungen, welche mikroskopisch wahrgenommen wurden.

Zur Erzielung einer guten Denitrifikation mit Cellulose wurde eine Flasche von etwa 200 ccm gefüllt mit folgender Mischung: Leitungswasser 100, Papier 2, KNO_3 0,25, K_2HPO_4 0,05, und jetzt wurde geimpft mit einigen Kubikcentimetern Kanalwasser, dem etwas Moder hinzugefügt wurde. Die Flasche wird in der Weise, wie ich in meiner Abhandlung über Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien, welche in aller Kürze hier mitgeteilt werden wird, angegeben habe, bis an den Hals gefüllt, um den Luftzutritt abzuschließen, und darauf kultiviert man bei 35 °.

Nach ungefähr 6 Tagen ist die Wirkung wahrnehmbar, aber erst nach 12 Tagen ist starke Gärung eingetreten, wobei ein Teil der Flüssigkeit aus der Flasche gepreßt wird. Nach ungefähr 15 Tagen ist alles Nitrat und auch das anfänglich gebildete Nitrit verschwunden. Man gießt nun die Flüssigkeit vorsichtig von dem sich zusammenballenden Cellulosebrei ab, was ohne nennenswerten Verlust von Papierfasern geschehen kann. Hierauf füllt man die Flasche ganz mit folgender Flüssigkeit: Leitungswasser 100, KNO_3 0,25, K_2HPO_4 0,05.

Der Prozeß fängt jetzt viel schneller an, als bei der ersten Kultur, das Nitrat verschwindet innerhalb 4 bis 5 Tagen, und dadurch, daß man diese Manipulation einige Male wiederholt, kann man schließlich innerhalb 1 bis 2 Tagen 0,5 g KNO_3 in einem Volumen von 200 ccm zum Verschwinden bringen. Hätte man eine neue Quantität KNO_3 zu der ursprünglichen Flüssigkeit hinzugefügt, so wäre der Prozeß schnell zum Stillstand gebracht durch das gebildete KHCO_3 . Bei Ueberimpfung in sterilisierte Flüssigkeit tritt der Prozeß schneller ein, jedoch stellt sich bei einer zehnmaligen Ueberimpfung derselbe Charakter heraus.

Auch rohe Flachsfasern, Watte und Leinwand konnten für die Denitrifikation gebraucht werden, aber bei Sägespänen und Torf trat dieser Prozeß nicht mehr ein. Van Senus konnte ebensowenig eine Zersetzung von Holzcellulose durch echte anaërobe Bakterien wahrnehmen, und diese außerordentlich schwere Zersetzung von Holzcellulose ohne Zutritt von Luft bildet, wie auch dieser Forscher bereits bemerkt, den Schlüssel für die Erklärung der Bildung von Humus, Torf, Braunkohle, Steinkohle.

Bei der Denitrifikation werden die weißen Fasern rasch orange gefärbt, während der ursprünglich wenig zusammenhängende Brei eine schleimige Konsistenz bekommt. Beim Mikroskopieren stellt es sich heraus, daß bereits ziemlich schnell nach der Impfung einige Fasern von einem Bakterienschleim eingehüllt werden, während dies nach längerer Kultur bei beinahe allen Fasern der Fall ist. Allmählich fällt die Faser innerhalb dieses Schleimes auseinander in lose Fibrillen und schließlich verschwindet sie darin ganz oder es bleiben nur einzelne Stückchen Cellulose übrig (Fig. 1). Sehr deutlich wird diese Zersetzung beim Gebrauch von Streifen Filtrierpapier, wobei man schließlich Bakterienhäute bekommen kann, die noch die Form des Papiers besitzen, aber worin man nur wenige sehr stark zersetzte Papierfasern und die nicht zersetzten Holzelemente antrifft (Fig. 2).

Die Gase, welche bei der Denitrifikation von Cellulose freikommen, und wovon einige Liter gesammelt wurden, enthalten ausschließlich N_2 und CO_2 , keine Spur von H_2 , CH_4 oder N_2O wurde angetroffen.

Die Mikroben, welche bei diesem Prozeß mitwirken, kommen sehr allgemein verbreitet vor in Grabenmoder und Kanalwasser, weniger allgemein im Erdboden. Auch im Meerwasser wurden stets Mikroben angetroffen, welche mit Cellulose denitrifizieren, was von Bedeutung ist für die Erklärung der Prozesse, die in dem Meere vor sich gehen.

Die hierbei tätigen Mikroben konnten noch nicht isoliert werden; mikroskopisch wurden neben Infusorien, Monaden, Spirillen und Amöben nur kleine stabförmige Bakterien wahrgenommen, und diese rufen wahrscheinlich den Prozeß hervor¹⁾. Daß die betreffenden Mikroben aërob sind, glaube ich aus folgenden Gründen annehmen zu müssen: 1) Alle bekannten denitrifizierenden Bakterien sind aërob und wirken nur bei Anwesenheit von Salpeter anaërob. 2) In Kulturen, worin Cellulose denitrifiziert, wird Methylenblau nicht reduziert, während dies bei Kulturen der bekannten Anaëroben stets der Fall ist.

Eine Vergleichung der Denitrifikation mit der Wasserstoff- und Methangärung zeigt solche große Unterschiede, daß es deutlich ist, daß man es hier mit einem ganz anderen Prozesse zu tun hat. Die Geschwindigkeit, mit der die Cellulose verschwindet, ist bei beiden Prozessen ungefähr dieselbe. In einem Volumen von 500 ccm konnte ich in 1 Monat, beim Gebrauch von 36 g KNO₃, 8 g Cellulose bis auf einige Fasern zum Verschwinden bringen. Die Quantität, die theoretisch hierfür erforderlich ist, beträgt nur 24 g; daß mehr Nitrat gebraucht ist, erklärt sich aus der Tatsache, daß ein Teil davon mit der ausgepreßten Flüssigkeit verloren ging. Omelianski brachte mit Hilfe der Wasserstoffgärung in einem Volumen von 3 l in 3¹/₂ Monat 41,6 g Cellulose zur Auflösung, und in einem Volumen von ungefähr 1 l in 5 Monaten 12 g.

Der Denitrifikation unter dem Einfluß von Cellulose gegenüber steht die bedeutungsvolle Tatsache, daß in Gegenwart dieser Substanz auch Nitrifikation möglich ist. Die Nitrifikation von Nitrit in Gegenwart von Cellulose wurde von Omelianski angezeigt, während ich außerdem die Nitrifikation von Ammonsalzen in Lösungen, worin sehr wenig Cellulose war, konstatieren konnte. Welcher dieser Prozesse in dem Boden auftreten wird, hängt an erster Stelle von der Aëration ab, und sie können also sehr gut nebeneinander, lokalisiert in verschiedenen Bodenteilchen, vor sich gehen. Da bei der Denitrifikation mit Cellulose auch Nitrit entsteht und Cellulose die Oxydation dieses Nitrits zu Nitrat durchaus nicht verhindert, so werden diese beiden Prozesse, wenn sie nebeneinander verlaufen, ein fortdauerndes Verschwinden von Cellulose verursachen können. Und hieraus wird die große Bedeutung dieser Prozesse für die Selbstreinigung von Boden und Wasser und für die biologische Reinigung von Abfallwässern besonders deutlich.

2. Die aërobe Zersetzung von Cellulose durch Bakterien.

Will man Nitrifikation in Gegenwart von Cellulose nachweisen, so darf nur eine geringe Quantität dieser Substanz (0,05 Proz.) vorhanden sein; fügt man mehr hinzu, dann findet eine starke Zersetzung der Cellulose durch gewöhnliche aërobe Bakterien statt, und dabei

1) Während der Drucklegung ist mir die Isolierung dieser Art gelungen, worüber bald eine Veröffentlichung erscheinen wird.

entsteht so viel lösliche organische Substanz, daß die Nitrifikation gehemmt wird. Diese Zersetzung wird am besten wahrgenommen, wenn man folgendes Kulturmedium anwendet: Leitungswasser 100, Papier 2, NH_4Cl 0,1, K_2HPO_4 0,05, Kreide 2. (Mit KNO_2 , KNO_3 , Pepton und MgNH_4PO_4 anstatt des NH_4Cl werden unter denselben Kulturbedingungen gleichartige Resultate erzielt.) Man kultiviert bei $28-35^\circ$ in Erlenmeyer-Kolben in einer Schicht von etwa 0,5—1 cm, also unter sehr aëroben Umständen.

Gebraucht man als Infektionsmaterial Grabenmoder, so nimmt man nach 5 bis 6 Tagen ein kräftiges Wachstum von Cellulose auflösenden Bakterien wahr, und außerdem von Spirillen, welche jedoch die Cellulose nicht angreifen (Fig. 8). Meistens werden verschiedene Spirillenarten nebeneinander angetroffen, bisweilen auch nur eine Art. Oefters kamen neben diesen Arten noch Infusorien, Monaden, Amöben, kleine Bakterienarten, bisweilen auch Stabbakterien und Sporenpilze vor.

Eine Anhäufung von Spirillen konnte auch mit folgender Flüssigkeit erzielt werden: Leitungswasser 100, Calciumlaktat 2, Pepton 0,05, K_2HPO_4 0,05. Zur Infektion dient ein wenig Grabenwasser, worin etwas Moder aufgeschüttelt ist. Beim Kultivieren in einer dünnen Schicht in Erlenmeyer-Kolben bei $28-37^\circ$ traten hierin Spirillenkulturen auf. Hieraus darf man jedoch durchaus nicht den Schluß ziehen, daß Laktat als vorübergehendes Abbauprodukt bei der aëroben Zersetzung von Cellulose auftritt.

Bei der Zersetzung wird die Faser von einem Mikroben-schleim eingehüllt, worin man stets ein sehr kleines Stäbchen und bisweilen einen großen Micrococcus findet, dieser letzte tastet selbst die Cellulose nicht an, fördert aber die Zersetzung sehr. Die Zersetzung fängt an der Oberfläche an und geht auch in äußerst dünnen Schichten vor sich, sie ist also sicherlich aërob. Durch die Auflösung kann der Sauerstoffverbrauch in den Kulturen so groß werden, daß anaërobe Prozesse (Wasserstoff- und Methangärung) möglich werden; in diesem Falle verläuft die Auflösung sehr schnell und die Spirillen werden verdrängt.

Beim Gebrauch von Erde statt Grabenmoder beobachtet man dieselben Erscheinungen, nur trifft man jetzt immer dasselbe kleine, kurze, dicke, körnige Spirillum mit einer halben Windung an. Auch bei der Anwendung von Meerwasser wird Zersetzung wahrgenommen, und auch hier traten verschiedene Spirillen auf, während im anaëroben Stadium die Zersetzung durch einen anaëroben Sporenpilz geschah, welcher an die Bakterien der Wasserstoff- und Methangärung erinnert.

Die Isolierung der Cellulose zersetzenden Bakterien gelang nicht, aber das Resultat, daß die Cellulose durch sehr allgemein verbreitete aërobe Bakterien zersetzt werden kann, wurde noch überzeugend bestätigt durch folgenden Versuch:

In eine Glasschale bringt man 2 Blätter schwedisches Filterpapier und streut dazwischen pulverisiertes MgNH_4PO_4 , darauf übergießt man mit einer Lösung von 100 Leitungswasser 0,05 K_2HPO_4 . Bringt man nun auf diese Platte ein wenig Wasser, worin Garten-

erde, Grabenmoder oder noch besser Humus oder dürre Blätter verteilt sind, und kultiviert man bei 24—28°, dann kommen nach 4—5 Tagen gelbbraune Flecken auf dem weißen Papier zum Vorschein, die bei mikroskopischer Untersuchung mit Bakterien durchtränkt scheinen und welche sich sehr schnell ausbreiten. Das Papier wird an diesen Stellen pappig und hat allen Zusammenhang verloren, was besonders beim Gebrauch von Leinwand und Kattun, anstatt Papier sehr überzeugend wird. Die Faser wird stark zersetzt (Fig. 3) durch eine braune, stark bewegliche, sehr kleine Stabbakterie (Fig. 4), *Bacillus ferrugineus*, und wird zugleich in einen Schleim gehüllt, worin auch öfter der früher erwähnte *Micrococcus* angetroffen wird (Fig. 5 und 6). Bei der kombinierten Wirkung verschwindet die Faser bisweilen ganz und es bleibt ein Mikrokokkenschleim zurück (Fig. 7). Außer Monaden und Amöben kommen noch andere kleine Bakterien als *B. ferrugineus* vor, jedoch werden keine anaerobe Bakterien, Sporenpilze oder Spirillen angetroffen.

Bei Impfung in Erlenmeyer-Kolben, in oben beschriebener Weise zubereitet, traten eben solche Kulturen, wie man sie darin bei direkter Impfung erhält, auf. Auch umgekehrt konnten bisweilen mit solchen direkten Kulturen auf Papier Flecke hervorgerufen werden.

Die Zersetzung kann also in beiden Fällen durch dieselbe Bakterie stattfinden, aber dies braucht nicht immer der Fall zu sein, und es kommen also mehrere aerobe Zersetzer vor, unter denen jedoch *B. ferrugineus* am meisten angetroffen wird. Auch beim Gebrauch von Meerwasser für die Kultur auf Filterscheiben werden dergleichen braune Flecke wahrgenommen.

Auch hier gelang die Isolierung der zersetzenden Bakterie nicht¹⁾, zwar konnte bisweilen mit dem rohen Bakteriengemisch, wie es auf der Platte zum Vorschein kam, ein gelber Fleck erzeugt werden, aber dies hörte bei Ueberimpfung der Plattenkultur sogleich auf; mit Reinkultur jedoch konnte niemals eine Zersetzung festgestellt werden.

Diese aerobe Zersetzung von Cellulose durch allgemein vorkommende Bakterien erklärt schon lange bekannte Tatsachen: Das Zersetzen von Pfählen, die teils in, teils außer dem Wasser stehen, gerade an der Grenze von Luft und Wasser, das Zerreißen von Tauwerk, das im Wasser hängt, gerade an der Oberfläche desselben, das aerobe Verfaulen des Holzes und der Blätter, u. s. w. Daß wirklich *B. ferrugineus* beim Verschwinden der Cellulose in der Natur eine große Rolle spielt, ergibt sich aus folgendem Versuche:

Am 14. Oktober 1902 wurden in dem Garten des bakteriologischen Laboratoriums in einer Tiefe von 15 cm ein leinenes Tuch und an zwei anderen Stellen je 4 Bogen Filterpapier vergraben. Am 22. März 1903 war vom Filterpapier keine Spur mehr zu finden, während das leinene Tuch weich und pappig geworden war, allen Zusammenhang verloren hatte und nur in Stücken aus der

1) Auch diese Art konnte ich neulich isolieren.

Erde zu nehmen war. Beim Ausstreichen von einzelnen, sehr stark zersetzten Fasern der Leinwand auf das in oben beschriebener Weise zubereitete Filterpapier bekam ich schon nach 3 Tagen eine Kultur von *B. ferrugineus*.

3. Die Zersetzung von Cellulose durch Schimmelpilze.

Bereits früher ist von einem Dutzend Schimmelpilzen durch verschiedene Forscher angegeben worden, daß sie imstande sind, die Cellulose zu lösen. Es ist uns gelungen, ein Verfahren zu finden, durch das man die Cellulose lösenden Schimmelpilze mit großer Sicherheit aus der Natur isolieren kann. Dazu werden in eine Glasschale 2 sterile Scheiben schwedischen Filtrierpapiers gebracht und diese werden angefeuchtet mit folgender Flüssigkeit: Leitungswasser 100, NH_4NO_3 0,05, KH_2PO_4 0,05. Als Infektionsmaterial kann man Erde oder Humus gebrauchen, aber die besten Resultate werden erzielt, wenn man die Schale ungefähr 12 Stunden offen an der Luft stehen läßt. Man kultiviert bei 24° und sorgt dafür, daß das Papier feucht bleibt. Nach 14 Tagen oder 3 Wochen bekommt man einen Einblick in die enorm reichen Pilzkulturen, welche sich auf diesen Platten entwickeln, und man ist dann überrascht über die große Anzahl Arten, die auf diese Weise zum Vorschein kommen. Zahlreiche Arten, die man auf Malzgelatine selten oder niemals antrifft, kommen hier zur Entwicklung, und außerdem kann auf diesen Papierplatten die Bildung von Pyknidien und von Perithezien, welche auf reichem Kulturboden oft sehr schwierig vor sich geht, auf eine besonders übersichtliche Weise wahrgenommen werden.

Am 11. März, bei trockenem Wetter, aber bei feuchtem Bodenzustand, wurden auf einer Schale von 275 qcm Oberfläche, nachdem diese 12 Stunden in der freien Außenluft des Gartens offen gestanden hatte, 152 zersetzende Schimmelkolonien wahrgenommen, worunter ± 35 verschiedene Arten erkannt wurden. Hieraus geht hervor, daß ein fortwährender Regen von Sporen Cellulose zersetzender Pilze niederfällt. Aus besonderen Versuchen geht hervor, daß diese, wenn sie auf den Grund fallen, größtenteils bald absterben.

Die durch diese „Papierprobe“ isolierten Fungi wurden auf Malzgelatine in Reinkultur gebracht, wobei sich herausstellte, daß sie durch saprophytische Bakterien verunreinigt waren. Diese zersetzen selbst die Cellulose nicht, wie zu erwarten war, weil die zersetzenden Bakterien in einem schwach alkalischen Medium wirken, während wir es hier mit einem sauren zu tun haben, infolge von KH_2PO_4 . Die folgenden Arten, welche hierbei isoliert sind, wurden einer näheren Untersuchung unterworfen: 1) *Sordaria humicola* Oud., 2) *Pyronema confluens* Tul., 3) *Chaetomium Kunzeanum* Zopf, 4) *Pyrenochaeta humicola* Oud., 5) *Chaetomella horrida* Oud., 6) *Trichocladium asperum* Harz, 7) *Stachybotrys alternans* Oud., 8) *Sporotrichum bombycinum* (Corda) Rabh., 9) *Sporotr. roseolum* Oud. et Beijer., 10) *Sporotr. griseo-*

lum Oud., 11) *Botrytis vulgaris* Fr., 12) *Mycogone puccinioïdes* (Preuss) Sacc., 13) *Stemphylium macrosporoides* (B. en Br.) Sacc., 14) *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link., 15) *Epicoccum purpurascens* Ehrenb. Bei der Determinierung dieser Arten, wovon die 1., 4. und 9. neu sind, haben wir die wohlwollende Unterstützung von Prof. Dr. C. A. J. A. Oudemans genossen.

Um die Zersetzung der Cellulose durch diese Schimmelpilze zu studieren, wurden ihre Reinkulturen auf Filterpapier geimpft, das nach dem Sterilisieren mit obengenannter Lösung getränkt war, wobei man die Sporen mit dem Platindraht in das Papier brachte. Auf diese Weise konnte man von mehreren der obengenannten Arten prachtvolle Kulturen erzeugen, wobei besonders die Bildung von Pyknidien und Perithezien sehr schön vor sich ging, während auch in vielen Fällen intensiv gefärbte Pigmente abgeschieden wurden, welche in die Fasern hineinzogen. So liefert z. B. *Pyrenochaeta humicola* ein dunkelschwarzes, gegen Säuren und Alkalien dauerhaftes Pigment, das die Faser intensiv färbt, und ganz an die Humusfarbstoffe erinnert. Hier fand die Pigmentbildung jedoch besser auf alkalischen Papierplatten statt. Bezüglich der Beschreibung der anderen Arten muß ich hier auf die ursprüngliche Abhandlung hinweisen.

Auch in Erlenmeyer-Kolben mit Papierbrei von folgender Zusammenstellung: Leitungswasser 100, Papier 2, NH_4NO_3 0,05, KH_2PO_4 0,05 wurden Kulturen der genannten Arten angefertigt, und auch darin war die Bildung der Fruktifikationsorgane sehr deutlich.

Aus folgenden Beobachtungen kann man auf eine starke Zersetzung der Cellulose durch Schimmelpilze schließen: 1) Starkes Wachstum auf den Papierscheiben und dem Papierbrei. 2) Aus dem mikroskopischen Bild der Fasern des Papierbreis nach längerer Kultur. So gibt Fig. 9 unserer Abbildung das Bild einer solchen Zersetzung durch *Mycogone puccinioïdes* nach 1 Monat Kultur. 3) Aus dem völligen Verschwinden der Fasern nach langem Kultivieren. Dies wurde z. B. bei derselben Art nach 6 Monaten wahrgenommen. 4) Aus der Gewichtsabnahme, welche die Papierscheiben bei der Kultur dieser Pilze erlitten. So konnte nach einer 40-tägigen Kultur von *Mycogone puccinioïdes*, nach dem Trocknen der Scheiben, ohne daß das stark entwickelte Mycelium davon entfernt war, eine Gewichtsabnahme von 14 Proz. konstatiert werden; ein gleicher Versuch mit *Trichocladium asperum* lieferte 9 Proz. 5) Aus der Quantität der Kohlensäure, welche bei der Kultur entwickelt wird. So fand ich bei einer 28-tägigen Kultur von *Chaetonium Kunzeanum* eine Oxydation von 4 Proz. der Cellulose. 6) Aus der Wahrnehmung, daß auf einem Kulturboden folgender Zusammensetzung: Leitungswasser 100, Agar 2, NH_4NO_3 0,05, KH_2PO_4 0,05 kein oder sehr schwaches Wachstum auftritt, während nach Zufügung von pulverisierter, amorpher Cellulose (bereitet aus der „Viskose“ von Cross und Bevan) sich sogleich Wachstum einstellt, und zwar in Stärke ganz abhängig von der Quantität der zugefügten Cellulose. 7) Aus der

Anwesenheit eines Cellulose zersetzenden Enzyms, dem man den Namen „Cellulase“ geben kann. Dieser Name ist dem Ausdruck „Cytase“ vorzuziehen, weil dieser letzte besser für ein Alexin gebraucht wird, das in dem normalen Serum vorhanden ist.

Die verschiedenen Arten zersetzen die Cellulose jedoch in sehr ungleichem Maße, man kann sie darum in 4 Rubriken einteilen: 1) starke Zersetzer, zu denen u. a. *Mycogone puccinioides* gehört, 2) mittelmäßig starke Zersetzer, 3) schwache Zersetzer, 4) Arten, welche keine Zersetzung geben, wozu u. a. *Mucor stolonifer*, *Dematium pullulans* gehören.

Resultate.

1) Cellulose kann bei ungenügendem Luftzutritt in Lösung gebracht werden durch denitrifizierende, nicht sporenbildende Bakterien.

2) Während Nitrifikation bei einigermaßen bedeutenden Quantitäten löslicher organischer Substanz nicht stattfinden kann, ergab sich, daß Cellulose bei diesem Prozesse, bei genügender Aëration, ohne Einfluß war.

3) Die kombinierte Wirkung der Nitrifikation und der Denitrifikation muß eine bedeutende Rolle bei der Vernichtung der Cellulose in der Natur spielen, z. B. bei der Selbstreinigung der Gewässer und des Bodens, sowie bei der biologischen Reinigung von Abfallwässern.

4) Cellulose kann auch bei völligem Luftzutritt durch allgemein verbreitete aërobe, nicht Sporen bildende Bakterien zersetzt werden, worunter eine braune Pigmentbakterie (*B. ferrugineus*) am häufigsten ist. Besonders in Symbiose mit einem gelben Micrococcus, der selber wirkungslos ist, wird die Zersetzung sehr intensiv.

5) In Nährlösungen, in welchen bei roher Infektion mit Grabenmoder oder Gartenerde die Cellulose durch aërobe Bakterien zersetzt wird, bilden sich immer besonders reiche Spirillenkulturen. Wahrscheinlich bestimmt also an erster Stelle die Cellulose die Verbreitung der Spirillen in der Natur.

6) Die Eigenschaft der Pilze, die Cellulose anzugreifen, ist eine sehr allgemeine. Die Lösung findet durch ein bestimmtes Enzym statt, dem man den Namen „Cellulase“ geben kann.

7) Eine der Ursachen für die Bildung von Humusfarbstoffen ist die Produktion von Pigmenten durch Bakterien und Pilze aus Cellulose.

Vorstehende Untersuchungen haben wir unter Leitung von Prof. Dr. M. W. Beijerinck angestellt.

Figurenerklärung.

Fig. 1. Faser von Filterpapier mit denitrifizierenden Bakterien, in Schleim eingehüllt. Vergr. 550.

Fig. 2. Reste von Filterpapier am Ende eines Denitrifikationsprozesses, α letzte Reste von Cellulosefasern, β , γ und δ nichtzersetzte Elemente von Holzcellulose. Vergr. 100.

Fig. 3. Faser von Filterpapier mit aëroben Bakterien (*B. ferrugineus*) in Fibrillen auseinander gefallen, in Schleim eingehüllt. Vergr. 550.

Fig. 4. *Bacillus ferrugineus* in starker Vergrößerung, die Pfeilchen bedeuten Bewegung. Vergr. 1500.

Fig. 5. Faser von Filterpapier durch aërobe Bakterien angegriffen, mit saprophytischem *Micrococcus*, auseinanderfallend in Fibrillen. Vergr. 550.

Fig. 6. Zwei Fibrillen der vorher genannten Faser stark vergrößert, mit α aërober zersetzender Bakterie und β saprophytischen Mikrokokken. Vergr. 1500.

Fig. 7. Ende der Zersetzung in Fig. 5, nachdem die Fibrillen unsichtbar geworden sind, sieht man nur noch Mikrokokken. Vergr. 550.

Fig. 8. Faser, die durch aërobe Bakterie angegriffen ist und in Fibrillen auseinanderfällt, zur Grundlage einer Spirillenkultur, in welcher 3 Arten zu unterscheiden sind. Vergr. 550.

Fig. 9. Zersetzung einer Faser von Filterpapier durch *Mycogone puccinioides*, außer der Fibrillenstruktur sind, infolge der Wirkung der Cellulase, Poren in den Fibrillen entstanden. Vergr. 550.

Autoreferat.

Nachdruck verboten.

Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Linné-Gesellschaft von Neu-Süd-Wales.

Von R. Greig Smith, Sydney.

Der bakterielle Ursprung der Gummiarten der Arabin-gruppe¹⁾.

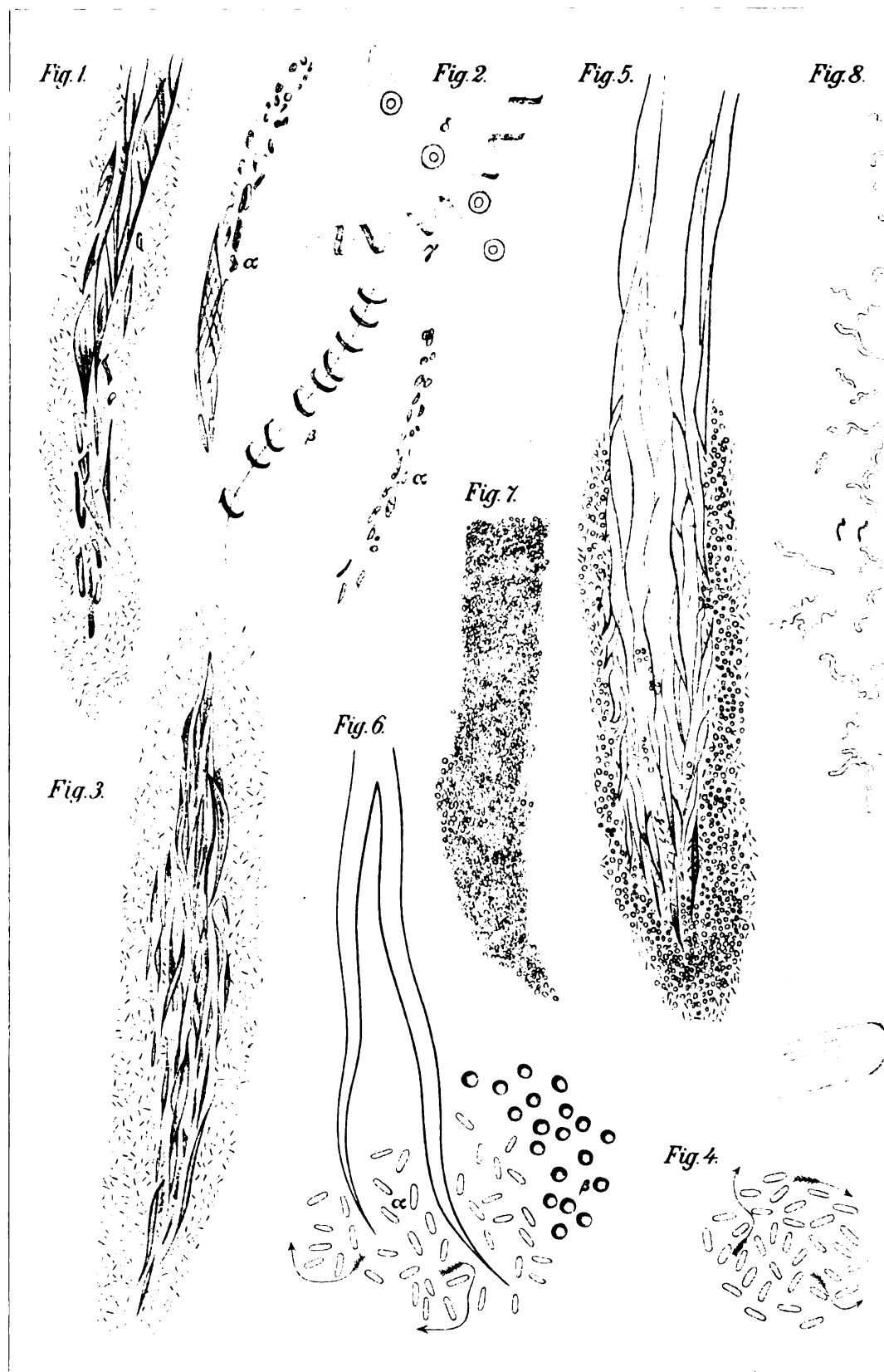
III²⁾. Die während des Wachstums von *Bact. Acaciae* und *Bact. metarabinum* in Saccharosemedien erzeugten Säuren.

Die Bakterien wurden in Medien kultiviert, welche Saccharose, Asparagin, Salze und Kalk enthielten. Wenn die Gasentwicklung aufgehört hatte, so wurde die obenauf schwimmende Flüssigkeit mit Barium-Hydroxyd hydrolysiert und schließlich einige wenige Tropfen von Aethylalkohol aus ihr gewonnen. Sowohl die flüssigen wie die festen Teile der Kulturen wurden mit einem reichlichen Maß von Schwefelsäure behandelt und filtriert. Die Säuren wurden aus den Filtraten durch Aetherdurchseihung, aus den trockenen Rückständen durch Aetherdiffusion extrahiert.

Beide Bakterien ergaben dieselben Säuren in annähernd denselben Verhältnissen. Die Säuren, die durch Dampf verflüchtigt wurden, bestanden hauptsächlich aus Essigsäure, der kleine Mengen von Ameisensäure beigemischt waren. Die nicht flüchtigen Säuren bestanden hauptsächlich aus Linksmilchsäure mit kleinen Mengen von Bernsteinsäure und Spuren von Oxalsäure. Nach Verdünnung des ursprünglichen ätherischen Rückstandes wurde Laurinsäure ausgeschieden. Das Verhältnis der flüchtigen zu den nichtflüchtigen

1) Protokolle der Gesellschaft 1903.

2) Bezüglich einer Synopsis von Arbeit No. I und No. II cf. Centralbl. Bd. X. p. 61—63.



Verlag von Gustav Fischer, Jena

PAGE NOT AVAILABLE

Säuren betrug 1:3. Kohlendioxyd wurde in beiden Fällen abgegeben, wenn die Bakterien in Medien von Nährgelatine ohne Karbonate gezüchtet wurden.

IV. Der Gummifluß der Weinrebe.

Es handelt sich hier nicht um die Gummosis (mal nero) des Weines, sondern um ein Gummiexsudat aus den beschnittenen Zweigen von Weinstöcken, die an feuchten Stellen wachsen. Das der Witterung ausgesetzte Gummi quoll mit Wasser unter Bildung eines Gelees auf und löste sich danach sehr langsam. Auf andere Weise behandelt, zeigte es sich wie Metarabin und wurde in Arabinose und Galaktose hydrolysiert. Mehrere Bakterien wurden aus den Gummi produzierenden Zweigen isoliert. Unter ihnen befand sich *Bact. Acaciae* und auch *Bact. metarabinum*. Die Gummisäuren wurden erzielt, indem man beide Bakterienarten auf Platten von Saccharose-Kartoffel-Tannin-Agar nach der bereits beschriebenen Methode züchtete ¹⁾.

Sie wurden wie in dem früheren Falle chemisch untersucht und erwiesen sich als Arabin und Meterabin.

V. Der Gummifluß der Pflaumenbäume.

Das natürliche Gummi löste sich teils in Wasser, teils quoll es in demselben auf; nach Hydrolyse lieferte es Arabinose und Galaktose. Aus dem weichen Gummi im Innern der großen globulären Massen wurde *Bact. Acaciae* isoliert. *Bact. metarabinum* konnte nicht isoliert werden, doch ist dies bei diesem Organismus ziemlich schwierig, besonders wenn, wie in diesem Falle, *Bact. Acaciae* überwiegt. Das unlösliche Gummi von *Bact. metarabinum* verhindert die Ausbreitung dieses Bakteriums in den für Plattenkulturen benutzten Medien, und so wird es von dem sich rasch verbreitenden *Bact. Acaciae* verdrängt. Die Untersuchung zeigte, daß der Gummifluß wenigstens teilweise durch *Bact. Acaciae* verursacht worden war.

VI. Der Gummifluß der Ceder.

Kleine bernsteinfarbene „Tränentropfen“ von Gummi waren aus Wunden ausgeschwitz, die von Insekten bei *Cedrela australis* F. v. M. verursacht worden waren. Die bakteriologische Untersuchung zeigte, daß das Vorkommen von Gummi an das Vorhandensein von *Bact. Acaciae* und möglicherweise noch an einen anderen Organismus, *Bakt. persicae* n. sp., gebunden war, der späterhin beschrieben werden soll.

1) Cf. Centralbl. Abt. II. Bd. X. p. 61. Das zur Bereitung des Agar benutzte Kartoffelextrakt wurde ursprünglich hergestellt, indem man Wasser und den Saft alter Kartoffeln zu gleichen Teilen mischte. Der Saft von neuen oder Frühkartoffeln muß stark verdünnt werden. Mit gewissen Kartoffeln wurden die besten Resultate durch Zusetzen von einem Teil Saft zu neun Teilen Wasser erzielt. Das Medium muß frisch präpariert sein. Ueber die Medien wird jedoch in einer künftigen Arbeit betreffend die Ernährung der Bakterien ausführlich verhandelt werden.

VII. Der Gummifluß des Pfirsichs.

Ein fast durchsichtiges, farbloses, gelatinöses Gummi sättigt die Gewebe der Frucht und schwitzt aus Stichen oder Wunden aus. Gefärbte Häutchen dieses Gummis zeigten, daß es aus einer Ansammlung von kleinen toten Bakterien bestand, die in einer Gummimasse eingeschlossen waren. Es befand sich tatsächlich kein lebendes Bakterium in dem in der Frucht enthaltenen Gummi, obschon lebende Hefearten und *Dematium pullulans* darin enthalten waren. Das Gummi muß daher im Stamm und in den Zweigen gebildet werden. Dies wurde dadurch bestätigt, daß *Bact. Acaciae* aus Teilen von Zweigen gewonnen wurde die sich nahe bei der Frucht befanden. Die anderen Gummi erzeugenden Bakterien, die zusammen mit *Bact. Acaciae* vorkamen, waren *Bact. levaniformans* und *Bact. Persicae*. Letzteres erzeugt möglicherweise einen Teil des Gummis.

VIII. Gummifluß des Mandelbaumes.

Dieser ist mit dem Gummifluß des Pfirsichs identisch. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß das Gummi wesentlich ein Produkt von Bakterien war. In den Zweigen dicht bei der Frucht wurden die 3 Bakterienarten nebst der *Dematium*-Art gefunden, die auch in den Pfirsichzweigen gesehen worden waren. In der Frucht waren die übrigen Bakterien von den sauren Säften getötet worden, während das *Dematium* erhalten geblieben war. *Bact. Acaciae* war der Hauptgummierzeuger.

IX. Der Gummifluß einer unbekannten Art der japanischen Dattelpflaume.

Diese Art, vermutlich eine Spezies von *Diospyros*, sondert bernsteinfarbene „Tränen“ ab, die den von der Ceder ausgeschiedenen verwandt sind. Die im Gummi nachweisbaren Bakterien waren *Bact. levaniformans* und *Bact. Acaciae*. Letzteres hatte unzweifelhaft die Ausschwitzung hervorgerufen.

Das Parabin von Sterculia.

Um die Untersuchung der Arten von Arabin zu vervollständigen, verschaffte ich mir die gummihaltigen Früchte von *Sterculia diversifolia*, deren Gummi aus einer Mischung von Arabin und Parabin besteht. Es gelang, zwei gummierzeugende Bakterien aus diesen Früchten zu isolieren. Das eine war *Bact. Acaciae*, welches, wie schon dargelegt, Arabin erzeugt; das andere bildete auf Saccharose-Kartoffelagar einen Schleim. Dieser teilweise zuckerfreie Schleim wurde im Autoklaven bei einem Druck von 3 Atmosphären erhitzt, wodurch er in ein Gerinnsel und eine Gummilösung aufgelöst wurde. Während die letzten Spuren von Zucker eliminiert wurden, verwandelte sich das lösliche Gummi in eine unlösliche Modifikation. Dieses unlösliche Gummi wurde in verdünnter Säure, aber nicht in verdünntem Alkali gelöst. Das Gummi wurde durch 5-stündiges Sieden in 5-proz. Schwefelsäure nicht hydrolysiert, jedoch durch die Wirkung von konzentrierter Schwefelsäure in ein Gemisch von Arabinose und Galaktose hydro-

lysiert. Die Identität dieser Zuckerarten wurde mittels ihrer Osazone bestimmt. Verdünnte Salpetersäure oxydierte das Gummi zu Schleimsäure.

Das Verhalten des bakteriellen Gummis gegenüber Säure und Alkali, sein Widerstand gegen verdünnte hydrolytische Agentien und die Natur der Produkte der Hydrolyse zeigen, daß es Parabin ist. Man kann also von der mit Gummifluß behafteten Pflanze 2 Bakterienarten isolieren, welche die Komponenten des Gummis erzeugen.

Schleim wurde durch den Organismus in Lösungen und auf festen Medien erzeugt, die Saccharose, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Mannit und Glycerin enthielten. Aus Raffinose, Laktose, Maltose, Inulin, Stärke oder Dextrin wurde nichts gewonnen.

Die anderen Produkte bei der Saccharosegärung waren Aethylalkohol, Kohlendioxyd und Säuren. Die letzteren waren Bernstein-, Laurin-, Essig-, Butter- und Ameisensäure. Die Saccharose wurde während der Gärung nicht invertiert.

Der von mir *Bacterium parabinum* n. sp. benannte Organismus weist mehrere Arten auf, welche sämtlich Parabinschleim erzeugen, jedoch hinsichtlich der Optimumtemperatur für die Schleimerzeugung voneinander abweichen. Der Schleim der einzelnen Arten verhält sich gewissen Reagentien gegenüber gleichfalls verschieden. Die allen Gummiarten gemeinsamen Reaktionen sind die bereits aufgeführten, ferner Gerinnen durch Eisenchlorid, Bariumhydrat und basisches Bleiacetat. Fehlingsche Lösung ergibt keinen Niederschlag, aber Kupfersulfat mit Zusatz von Natriumhydrat erzeugt einen hellblauen Niederschlag, der beim Erhitzen gerinnt.

Das Bakterium erschien als ein lebhaft bewegliches kurzes Stäbchen. Die Zellen einer jungen Agarkultur maßen 0,6 bis 0,7:0,8—1,0 μ ; längere Formen fanden sich in alten Kulturen. Die Geißeln waren entweder einfach und saßen am Ende, oder sie waren zahlreich und bekleideten die ganze Oberfläche. Die Gramsche Färbemethode erwies sich negativ; Sporen wurden niemals beobachtet.

Auf Nähragar waren die Kolonien durchscheinend weiß und klebrig. Unter dem Mikroskop zeigten sie bogenförmige Strukturen, hier und da in einer fein granulierten Grundsubstanz liegend. In Strichkulturen variierten die Formen je nach der Art; einige waren von dünner, klebriger, andere von gelatinärer Beschaffenheit, und hiernach richteten sich die anderen Merkmale wie der glatte oder gelappte Rand, die glatte oder rauhe Oberfläche. Gewöhnlich waren die Kulturen durchsichtig, weiß und glänzend.

Auf Agar, der 50 Proz. Saccharose und 5 Proz. Kartoffelsaft enthielt, können die Kulturen, je nach der Art 1) erhaben, üppig, durchscheinend weiß und nicht gravitierend sein; 2) weiß, klebrig und gravitierend; 3) dünn, weiß, sich ausbreitend und in dem kondensierten Wasser und dem Agar Gas bildend.

Auf Glukosegelatine waren die Kolonien weiß, erhaben und gummiartig, aber nicht klebrig. Unter dem Mikroskop waren sie grobkörnig und wolkig mit zerstreuten bogenförmigen Strukturen. Die tief gelegenen Kolonien zeigten zarte, ausstrahlende Cilien

am Rande. In Stichkulturen nahmen sie im ganzen die Gestalt eines Nagels an, dessen Kopf gewölbt, flach oder eingedrückt war; das Medium unter dem Nagelkopf wurde teilweise verzehrt und teilweise verflüssigt. Auf Kartoffel waren die reifen Kulturen erhaben, von speckigem Aussehen und gummiartig. In Bouillon wurde Indol erzeugt und Nitrate zu Nitriten reduziert. Milch blieb unverändert.

Das morphologisch und kulturell nächst verwandte Bakterium scheint *Bact. gelatinosum* Betae Fritz Glaser, ein Dextrin-erzeuger, zu sein.

Ein Schleimbakterium von Pfirsich, Mandelbaum und Ceder.

Im Verlauf der Untersuchungen über den Gummifluß von Pfirsich, Mandel und *Cedrela australis* wurde ein Organismus isoliert. Er erzeugte auf Saccharose-Kartoffelagar einen Schleim, der das Aussehen und die Beschaffenheit von steifem Mehlbrei hatte. Der Schleim wurde auch in saccharosehaltigen Nährlösungen erzeugt und war dann löslich. Während des Eliminierens der Zuckerbestandteile durch Alkohol wurde ein großer Teil des schleimigen Kohlehydrats in eine unlösliche Modifikation verwandelt. Diese wurde prompt durch verdünnte Säuren aufgelöst, jedoch nicht durch verdünnte Alkalien. Die Schleimlösung wurde durch neutrale und basische Bleiacetate, Bariumhydrate, Kalkmilch und Alkohol zum Gerinnen gebracht. In Emulsionen wurde der Schleim durch die erwähnten Reagentien gleichfalls zum Gerinnen gebracht. Der durch Züchtung des Bakteriums auf Saccharose-Kartoffelagar gewonnene Schleim zeigte sich, nachdem er von Zucker- und Salzbestandteilen befreit war, teils unlöslich, teils löslich und teils in einem Zustande von Pseudolösung in verdünntem Alkohol. Bruchteile wurden niedergeschlagen durch allmählichen Zusatz von 1) Kaliumchlorid, 2) starkem Alkohol und 3) Bariumchlorid. Diese 3 Teile, der in schwachem Alkohol unlösliche Teil und der in konzentriertem Alkohol lösliche, aber durch Bariumchlorid nicht zum Ausfallen gebrachte Teil, gerannen unter dem Einfluß der bereits vorhin erwähnten Reagentien, woraus hervorging, daß nur ein Kohlehydrat durch das Bakterium erzeugt wurde.

Der zuckerfreie Schleim wurde durch Kochen mit 5-proz. Schwefelsäure in ein Gemisch von reduzierenden Zuckern hydrolysiert, die durch ihre Osazone sich als Galaktose und Arabinose erwiesen, da der frühere Zucker überwog. Das wesentlichste Kohlehydrat unterschied sich von Arabin, Metarabin und Parabin dadurch, daß es durch Behandlung mit Wasser unter Druck im Autoklaven nicht löslich wurde. Es wurde unlöslicher, statt daß es durch diese Behandlung wie jene Arabine löslicher gemacht worden wäre.

Das Kohlehydrat ist in saurem Alkohol löslich, und diese Eigenschaft wurde bei der Untersuchung einer Probe von Mandelgummi benutzt. Das Gummi wurde mit Wasser extrahiert, um das Arabin zu entfernen. Der unlösliche, aber aufgequollene Rück-

stand wurde mit Salzsäure gesäuert und im Autoklaven erhitzt, wonach die aufgelösten Gummisäuren durch konzentrierten Alkohol gefällt wurden. Das Filtrat wurde neutralisiert und ein Niederschlag erzielt. Als dieser mittels Reagentien geprüft wurde, verhielt er sich wie das bakterielle Gummi, und es ist daher äußerst wahrscheinlich, daß der Organismus zu der Gummibildung beiträgt, das die Pflanzen ausschwitzen, in denen es sich findet. Das Bakterium erzeugte Schleim, wenn es auf einfachem Kartoffelagar und gewöhnlichem Nähragar gezüchtet wurde, der entweder Saccharose, Lävulose, Raffinose, Mannit, Dextrin oder Glyzerin enthielt. Auf Laktose, Stärke oder Inulin war die Schleimerzeugung unbestimmt.

Während der Gärung von Saccharose wurde Kohlendioxyd entwickelt und Aethylalkohol zusammen mit gewissen Säuren erzeugt. Diese bestanden aus Butter- und Milchsäure mit kleineren Mengen von Essigsäure und Spuren von Bernstein- und Ameisensäure. Das Verhältnis der flüchtigen zu den nichtflüchtigen Säuren betrug 1:4. Eine beträchtliche Menge reduzierender Zucker wurde durch die von dem Bakterium abgesonderte Invertase erzeugt.

Der Organismus ist ein unbewegliches, sporentragendes Bakterium, das die Neigung hat, Ketten zu bilden. Die Einzelstäbchen maßen 1,2—1,5:3—6 μ ; die Sporen waren zentral und maßen 1:5,5 μ . Die Sporen keimten an den Polen und die Stäbchen färbten sich nach Gramscher Methode. Auf Gelatine waren die Kolonien weiß und das Medium verflüssigte sich; in Stichkulturen zeigte sich eine röhrenförmige Verflüssigung mit einer Luftblase. Auf Kartoffel-Saccharoseagar wurde ein weißer Schleim in reichlicher Menge erzeugt. Auf Kartoffel verschmolzen mattweiße, isolierte Flecken und dehnten sich in gefurchter Fläche aus. Bouillon wurde schwach getrübt und zeigte einen flockigen Satz; Indol wurde gebildet; Nitrat wurde nicht reduziert. Milch wurde peptonisiert und reagierte alkalisch; das Medium zog keine Fäden. Das Bakterium kann mit *Bac. mucosus* Zimm. oder mit *Bact. glutinosum* Kern verwandt sein, aber es scheint neu zu sein, und da ich es zuerst im Pflsich fand, so habe ich es *Bakterium Persicae* n. sp. genannt.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Mikrobiologische Gesellschaft zu Petersburg.

Sitzung vom 19. Dezember 1903/1. Januar 1904.

Omellanski, W., Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methan-Gärung der Cellulose.

Vortragender teilt die Resultate seiner Experimente mit, welche zum Zweck hatten, das von ihm vorgeschlagene Verfahren zur Trennung der Wasserstoffgärung von der Methangärung der Cellulose durch Erwärmen des Impfmateriäls näher zu untersuchen. Ausgehend von einer Kultur, welche mit einem künstlichen Gemisch

der Bacillen beider Gärungsarten angesetzt war, wurde eine Hauptreihe von successiven Umsaaten fortgeführt, in denen durch Gasanalysen reine Methangärung festgestellt wurde. Indem Vortragender von den einzelnen Gliedern dieser Hauptreihe Seitenabimpfungen unter Anwendung von Erwärmung (75° C., 15 Min.) ausführte, konnte er 3 Perioden genau unterscheiden, welche sich folgendermaßen charakterisierten: In der ersten Periode (1. bis 3. Generation der Hauptreihe) ging in den Seitenreihen die Methangärung in Wasserstoffgärung über; in der zweiten Periode (4. bis 10. Generation) waren die Resultate wechselnd; in der dritten Periode (11. bis 15. Generation) stellte sich konstante Methangärung ein, welche sich schon nicht mehr durch Erwärmen in Wasserstoffgärung überführen ließ. Hieran knüpfte Vortragender einige Betrachtungen zur Erklärung all dieser komplizierten Wechselbeziehungen.

Sitzung vom 9./22. Januar 1904.

Omellanski, W., Ueber die Ausscheidung des Methans in der Natur bei biologischen Prozessen.

Vortragender weist auf Fälle von Methanausscheidung in der Natur unter spontanen Bedingungen hin und giebt eine Uebersicht der in der Litteratur vorhandenen Angaben über die Gärung verschiedener Substanzen unter Entwicklung von Methan. Die eignen Untersuchungen des Vortragenden beziehen sich auf die Methangärung folgender Substanzen unter gewissen streng definierten Bedingungen: Cellulose, Gummi-Arabicum, Essigsäure und eine Reihe stickstoffhaltiger Körper, wie Hühnereiweiß, Gelatine, Tischlerleim und Wolle. Der Vortragende beschränkt sich in gegenwärtiger Mitteilung auf die Feststellung der Tatsachen von Methanausscheidung bei der Gärung genannter Substanzen und läßt die Frage von den Agenten dieses Zerfalles völlig unberührt. Die weitere Bearbeitung der angeregten Fragen ist im Gange und Vortragender hofft, in Bälde darauf zurückzukommen.

Referate.

Petri, L., Ricerche sul genere *Streptothrix*. (Nuovo Giornale botan. italiano. Vol. X. 1903. p. 585—601.)

Die Vertreter der von Cohn (1875) geschaffenen Gattung *Streptothrix* sind sehr stark verbreitet und gehören zu den energischsten Zerstörern der organischen Substanz. Ihr Polymorphismus hat zu mannigfaltigen Mißdeutungen Anlaß gegeben, so daß die Systematik dieser Gattung ziemlich kompliziert wurde, namentlich durch Hinzuziehung von *Actinomyces*. Auch hat man die Gattung zu den Hyphomyceten stellen wollen, was aber ganz und gar nicht entsprechend erscheint.

Verf. isolierte aus den Wurzeln von Erdbeeren (Florenz) eine *Streptothrix*-Form, womit er nicht allein gesunde Pflanzen inokulierte, sondern die er auch zu besonderen Kulturen (auf Agarplatten,

Kartoffeln, gelben Rüben, in Pepton-Gelatine, in Fleischbrühe, Milch u. s. f.) benützte. Die *Streptothrix*-Art — mit *S. chromogena* Gasp. verwandt — ist nur als Saprophyt der Erdbeerpflanzen zu betrachten, da die damit inokulierten Pflanzen nach 6 Monaten noch gesund verblieben; ähnlich wie in den Wurzelknöllchen von *Podocarpus*-Arten, aus denen der Mykorrhizenpilz verschwunden war, *Streptothrix*-Exemplare gefunden wurden.

Die Membran dieser *S.*-Arten ist dünn und stark lichtbrechend, so daß sie kaum wahrnehmbar erscheint, nur nach Entfernung des Inhaltes mittelst Eau de Javelle wird sie zunächst sichtbar, läßt sich zwar nur wenig tingieren, quillt aber nach Zusatz des Reagens immer mehr auf, bis sie sich darin löst. Schwefelsäure löst sich noch rascher; Jodpräparate geben keine Reaktion; den Reaktionen nach dürfte sie aus Schleimstoffen bestehen.

Die Resultate der verschiedenen Kulturen ermächtigten zu den folgenden Schlußfolgerungen:

1) Die benützten *S.*-Formen entwickelten in Gelatinekulturen mit Pepton und Glykose besondere membranlose Bläschen an der Spitze der Zweige.

2) Die Bläschen sind immer seitlich am Zweige entwickelt, wahrscheinlich dort, wo ein Seitenzweig hervortreten sollte.

3) Mit der Bläschenbildung hört das Wachstum des Zweiges auf.

4) Ueberträgt man Zweige und Bläschen auf frischen Nährboden der gleichen Zusammensetzung, so bleiben die letzteren unverändert, während die Zweige, welche noch keine Bläschen entwickelt hatten, sich reichlich vermehren, um aber ihrerseits bald mit der Erzeugung von Bläschen ihr Wachstum einzustellen.

5) Die Hervorbringung von Bläschen nimmt mit jeder neuen Uebertragung zu, bis jede weitere Entwicklung aufhört.

6) Bringt man Zweige mit Bläschen auf Agar, so hört die Bläschenbildung auf, die Zweige und die daran haftenden Bläschen erfahren aber mehrere Modifikationen, worauf jene sich entleeren, während sich die Bläschen unter Quellungserscheinungen auflösen.

7) Das Zerfallsprodukt häuft sich rings um die degenerierten Fadenstücke und das Ganze erinnert dann sehr stark an die *Actinomyces*-Fäden in vielen parasitär zerfallenden Formen.

8) Die Sekretion dauert eine Zeitlang fort, nach welcher die noch nicht entleerten Zweige eine neue Kolonie bilden.

9) Nur die Fäden aus der ersten oder zweiten Uebertragung in Gelatine entwickeln, nach reichlicher Sekretion, neue Kolonien; die der späteren Uebertragungen, in welchen viele Bläschen gebildet werden, bilden weder Sekretionen noch Neubildungen.

Die innere Natur der Bläschen ist noch unbestimmt, schleimartig; in destilliertem Wasser quellen sie und lösen sich schließlich auf.

Solla (Triest).

Foa e Chiapella, Ricerche sopra un nuovo microorganismo fosforescente sperimentale. (Archivio di biologia normale e patologica. Anno LXII. Fasc. 3.)

Zweite Abt. Bd. XI.

45

Von einem Stück Eierkuchen, das den Verff. zur Untersuchung übergeben worden war, da man denselben als phosphorhaltig in Verdacht hatte, wurde ein phosphoreszierender Mikroorganismus isoliert. Derselbe soll, nach der Ansicht der beiden Verff., zu einer neuen Gattung gehören; er ist schwach eiförmig gestaltet, zeigt sich selten isoliert in Fäden von 3—4 Individuen, besitzt eine große Beweglichkeit, die er dem Vorhandensein einer langen Polargeißel verdankt, färbt sich leicht mit den üblichen Methoden, ist Gram gegenüber nicht widerstandsfähig und erzeugt keine Sporen. Verff. schlagen für den neuen Mikroorganismus die Bezeichnung vor: *Photobacterium italicum* oder *Pseudomonas italicum*.
Veratti (Pavia).

Buchner, Eduard und Meisenheimer, Jakob, Ueber die Enzyme von *Monilia candida* und einer Milchwuckerhefe. (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. LX. 1903. p. 167.)

Wie die Zymase, ist auch die *Monilia*-Invertase weder aus der frischen noch aus der getrockneten Hefe auszuziehen, und der Nachweis in den frischen Zellen gelingt erst, nachdem sie mit Glaspulver zerrieben sind. Die Analogie gab Verff. Veranlassung, die Enzyme der *Monilia* mit Hilfe der neuen Methoden zu studieren, einerseits Preßsaft daraus darzustellen, andererseits die Organismen mit Aceton zu töten, um dann die reinen Enzymwirkungen untersuchen zu können. Die Ergebnisse sind folgende: 1) Der ohne Wasserzusatz hergestellte Saft aus *Monilia candida* invertiert Rohrzucker sehr kräftig. Dagegen war Gärwirkung nicht immer zu bemerken und auch in den positiven Fällen nur schwach. Ähnliches gilt für das mit Aceton hergestellte Präparat. 2) Die *Monilia*-Invertase geht nicht durch Pergamentpapier hindurch. In Uebereinstimmung damit steht, daß das Enzym nach E. Fischer und P. Lindner weder aus den frischen noch aus den getrockneten Zellen extrahiert werden kann. Die mit Aceton hergestellte Dauer-*Monilia* und, wie Fischer und Lindner berichten, auch getrocknete *Monilia* invertieren aber Rohrzuckerlösung; es muß demnach der Zucker durch die Zellmembran einzudringen vermögen. Da nach Fischer und Lindner frische *Monilia*-Hefe Rohrzucker kaum invertiert, so verhindert entweder bei der lebenden *Monilia* eine Art von Plasmahaut das Eindringen des Rohrzuckers oder es ist beim Trocknen bzw. bei der Acetonbehandlung ein Schrumpfen der Zellmembran unter Erweiterung der Poren anzunehmen. 3) Die *Monilia*-Invertase ist gegenüber verschiedenen Einflüssen ziemlich unempfindlich. Sie trägt kurze Einwirkung von Aceton und Aether ohne Vernichtung. Sie geht durch 1-tägiges Erwärmen (33 °) des frischen Preßsaftes, also unter Einhaltung der natürlichen Konzentrationsbedingungen, nicht zu Grunde, gleichgültig, ob Toluol anwesend ist oder nicht.

Außer auf *Monilia* haben Verff. ihre Versuche auch noch auf eine Milchwuckerhefe aus armenischem Mazun (No. 496 des Institutes für Gärungsgewerbe in Berlin) ausgedehnt. E. Fischer

bat gezeigt, daß die Milchzuckerhefe des gleichen Institutes eine Milchzucker hydrolisierende Laktase enthält, die weder aus den frischen noch aus den getrockneten Zellen, sondern erst nach dem Zerreiben der getrockneten Zellen mit Glaspulver durch Wasser ausgezogen werden konnte. Mit dem Preßsaft aus Hefe 496 konnten Verff. Milchzucker unter Kohlendioxydentwicklung vergären. Ferner ließ sich aus der bezeichneten Hefe durch Acetonbehandlung ein Dauerpräparat darstellen, welches aus Trauben- und Milchzucker Kohlensäurebildung bewirkte, und zwar wurde das Mono- und das Disaccharid gleich schnell vergoren. Rohrzucker wurde durch das Acetonpräparat überhaupt nicht oder wenigstens nur in so geringem Maße vergoren, daß es zu keiner Gasentwicklung kam. In der Milchzuckerhefe 496 scheinen demnach höchstens Spuren einer Invertase vorhanden zu sein.

Die Monilia-Invertase und die Hefenlaktase gehören ebenso wie die Zymase zu den Endoenzymen. H. Will (München).

Janssens, A propos du noyau de la levure. (La Cellule. T. XX. Fasc. 2. p. 337—349.)

Der Verf., welcher vor einigen Jahren eine Arbeit über die Struktur der Hefearten veröffentlicht hatte, kritisiert die neuesten, von Wager, Guilliermond, Barker, Marpmann und Hirschbruch über diese Frage erschienenen Arbeiten. Gleich Guilliermond, Barker und Marpmann konstatiert der Verf. das Vorhandensein eines Kernes. Die von Guilliermond veröffentlichte Beschreibung der Struktur dieses Kernes entspricht derjenigen des Verf. Indessen bringt Janssens die Frage gewissermaßen wiederum in Verwirrung. Neue Beobachtungen bestätigen ihn in der Meinung, daß der Kern beim Beginn der Gärung durch eine Vakuole dargestellt wird, die in ihrem Innern einen Nucleolus enthält, er kehrt so zur Wagerschen Theorie einer Kernvakuole zurück. Er verwechselt die metachromatische Körperchen einschließende Vakuole mit dem Kern, der sich bedeutend schwieriger differenziert.

Der Verf. geht dann die Beobachtungen Barkers über die der Sporenbildung günstigen Bedingungen durch und kommt schließlich auf die cytologischen Erscheinungen der Sporenbildung. In Uebereinstimmung mit Barker und im Gegensatz zu Wager und Ref. bleibt er bei dem, was er in seinen früheren Untersuchungen bereits dargelegt hatte, nämlich daß in dem Moment, wo die Zellen sich anschicken, Sporen zu bilden, eine Teilung des Kernes stattfindet, auf die eine Wiederverschmelzung folgt. Dieser wäre dann der Wert einer Konjugation beizumessen, die derjenigen analog wäre, welche Dangeard und Sappin Trouffy bei den Ascomyceten und Basidiomyceten beschrieben haben.

Guilliermond (Lyon).

Münzer, E., Dauerhefe und Gärungsprobe. (Münch. mediz. Wochenschr. 1903. No. 45.)

Verf. stellte mit Dauerhefen (Furonkuline und Zymin) in

45*

Lohnsteinschen Kolben Gärungsproben an und fand, daß Zymin, mit Wasser zusammengebracht, Kohlensäure entwickelt. Diese Selbstgärung beruht auf der Anwesenheit einer vergärbaren Kohlehydratgruppe in der Hefe, die aber nur von dem genannten getrockneten Hefepräparat, nicht von der lebenden Hefezelle angegriffen wird. Infolge dieser Selbstgärung gibt die Dauerhefe bei Gärungsproben zu hohe Werte. Georg Schmidt (Breslau).

Sollied, Peter Ravn, Studien über den Einfluß von Alkohol auf die an verschiedenen Brauerei- und Brennereimaterialien sich vorfindenden Organismen, sowie Beschreibung einer gegen Alkohol sehr widerstandsfähigen neuen *Pediococcus*-Art (*Pediococcus Hennebergi* n. sp. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1903. No. 45—46.)

Von Brauereimaterialien aus der Versuchsbrauerei wurde geschrotenes Darrmalz und Grünmalz und von Brennereimaterialien aus der Versuchsbrennerei Roggenschrot, Darrmalz, Grünmalz, rohe Kartoffeln und Kartoffelmaische (Dick- und Dünmmaische) zu den Versuchen benutzt. Es wurde das Schrot oder das Malz mit Leitungswasser, dem steigende Mengen Alkohol (0,5, 1, 5, 7,5, 10, 15, öfter auch 20 Volumproz.) zugesetzt waren, übergossen und bei verschiedenen Temperaturen (20, 30, 40, 50° C) mehrere Tage beobachtet. In einigen Fällen kam statt Wasser Hefewasser oder Dextrosehefewasser, Würze, Bier oder Stärkekleister zur Anwendung. Verf. untersuchte die verschiedenen Flüssigkeiten mikroskopisch, ferner auf Trübung, Gärung, Hautbildung und Geruch und stellte durch Titration die Säurezunahme fest.

Die wichtigsten Ergebnisse waren in den einzelnen Versuchen folgende:

I.

A. Brauereimaterialien.

1) Geschrotenes Darrmalz in Wasser bei 32° C:

Bei 0—5 Proz. Alkohol: Schimmelpilze, Oidium, Bakterien und Pediokokken; bei 10—20 Proz. am 2. Tage keine Organismen.

Nach 8 Tagen war bei 0—1 Proz. Fäulnisgeruch, bei 10 Proz. *Pediococcus*-Entwicklung, bei 15 und 20 Proz. keine Organismen.

Eine Säurebildung fand diesen Befunden entsprechend bei 0—10 Proz. statt, und zwar am meisten bei 0—1 Proz., etwas weniger bei 5 und 10 Proz. Bei 5—20 Proz. Alkohol war die Flüssigkeit rötlich bis braun gefärbt (Oxydasen?).

2) Lebendes Grünmalz in Wasser:

a) Bei 32°:

Ohne Alkohol: *Mucor*, *Sarcina maxima*, Bakterien und Streptokokken, 5—10 Proz.: Pediokokken und andere Bakterien.

Nach 3 Tagen war bei 0—10 Proz. Alkohol beträchtliche Säurebildung, und zwar am stärksten bei 5 und 7,5 Proz.

Bei 7,5 und 10 Proz. Alkohol war die Flüssigkeit violett gefärbt.

b) Bei 40°:

Ohne Alkohol: Essigsäure-, Milchsäure- und Buttersäurebacillen, ebenso Heubacillen.

Bei 5—10 Proz. Pediokokken, besonders bei 10 vorherrschend.

Nach 3 und 10 Tagen überall zunehmende Säurebildung, am meisten in dem Versuche ohne Alkohol.

B. Brennermaterialien.

1) Roggenschrot in Wasser bei 32° C:

0—5 Proz. Alkohol: Schimmelpilze, *Oidium*, Pediokokken und andere Bakterien.

10—20 Proz. Alkohol: 2—8 Tage steril, nur bei 10 Proz. nach 8 Tagen Pediokokken.

Nach 8 Tagen war, wie nach 2 Tagen, am meisten Säure in dem Gefäße ohne Alkoholzusatz. Wichtig ist ferner, daß hier die Säure nicht wieder abnimmt, während dies bei 0,5—5 Proz. der Fall ist.

Bei 10—20, besonders bei 15 Proz. trat eine dunkle Färbung der Flüssigkeit auf.

2) Mischung von Roggenschrot und Darrmalz in Wasser bei 48—50° C:

Bei 0—1 Proz. Alkohol: Streptokokken, Pediokokken, Heubacillen und andere.

Bei 5—7,5 Proz. besonders Streptokokken.

Bei 10 Proz. erst nach 6 Tagen Streptokokken.

Bei 15—20 Proz. dauernd ohne Organismen.

Die Säurebildung war am stärksten bei 0—0,5 Proz. Alkohol, sehr gering bei 10 Proz.

Bei 5—7,5 Proz. Alkohol war die Farbe der Flüssigkeit violett.

3) Kartoffeln bei 32° C.

a) Rohe Kartoffeln in Wasser zerquetscht.

Bei 0—1 Proz. *Sarcina maxima*, Pediokokken und andere Bakterien.

Bei 5 Proz. nur wenig Organismen, darunter *Sarcina maxima* und Pediokokken.

Bei 10 Proz. erst nach 6 Tagen Pediokokken.

Bei 15 Proz. dauernd ohne Organismen.

Die Säurebildung war im Gefäße ohne und mit 1 Proz. Alkohol am größten, bei 10 Proz. auch nach 6 Tagen nur sehr gering.

Bei 5 Proz. Alkohol war die Flüssigkeit am meisten braun gefärbt.

b) Gekocht und mit Waschwasser von rohen Kartoffeln infiziert.

Bei 0—1 Proz. viele verschiedene Bacillen, auch Buttersäurebacillen.

Bei 5 Proz. sehr wenig Bacillen.

Bei 10—15 Proz. dauernd ohne Organismen.

Die Säurebildung war bei 0—1 Proz. am größten.

c) Die Nährlösung: 1 Proz. Dextrose, 1 Proz. Pepton, 2 Proz. Liebig's Fleischextrakt, wurde mit Soda neutralisiert und mit Waschwasser von rohen Kartoffeln infiziert:

Bei 35° C:

Bei 0—1 Proz. Alkohol Fäulnis, bei 1 Proz. unter anderen Bakterien auch *Pediokokken*.

Bei 5 Proz. besonders *Pediokokken*.

Bei 7,5 Proz. am 2. Tage ohne Organismen, später säurebildende Bakterien und *Pediokokken*.

Bei 10 Proz. dauernd ohne Organismen.

Bei 20° C:

Bei 0—1 Proz. viele Bakterien, später Fäulnis.

Bei 5—7,5 Proz. am 2. Tage ohne Organismenentwicklung, später *Anomalous*-Hefe und *Pediokokken*.

Bei 10 Proz. dauernd ohne Organismen.

d) Kartoffelkleister wurde mit rohen Kartoffelschalen infiziert bei 38° C:

Bei 0—1 Proz. Milchsäure- und Buttersäurebacillen. Mäßige Säuerung.

Bei 5 Proz. wenig Bakterien.

Bei 10 Proz. dauernd ohne Organismen.

4) Kartoffelmaische, und zwar Dickmaische (24° Bllg.) und Dünnmaische (12° Bllg.).

a) Bei 50° C:

Dickmaische und Dünnmaische ohne und mit 5, 7,5 und 10 Proz. Alkohol: Milchsäurebakterien und *Pediokokken*.

Am meisten Säuerung: Dünnmaische ohne Alkohol.

b) Bei 40° C:

Wie bei 50°, die Säuerung ist beträchtlich stärker.

c) Bei 30° C:

Ähnlich wie bei 40°, vielfach Hefenentwicklung.

II.

In den folgenden Versuchen wurde Brauereimalz in Wasser, Hefewasser, Dextrosehefewasser, Würze, Stärkekleister und Bier gebracht und bei 35° aufbewahrt. Die Ergebnisse sind ähnlich wie in den oben mitgeteilten Versuchen:

Bei 0 Proz. Alkohol: Stets am meisten Bakterien verschiedener Art. Beträchtliche Säuerung, besonders in Würze und Hefewasser.

Bei 5—7,5 Proz.: Die Bakterienentwicklung wird gehemmt, aber nicht aufgehoben. Die Säuerung ist etwas geringer.

Es wurden überall Milchsäurebakterien, Streptokokken, *Pediokokken*, *Sarcina maxima*, öfters auch Hefen beobachtet. In Bier kamen, wie vorausszusehen, besonders Essigbakterien auf.

Dieselben Versuche wurden mit Brennerei-Langmalz wiederholt. Die Ergebnisse waren den vorigen sehr

ähnlich, doch fanden sich Schimmelpilze und verschiedene Hefearten viel häufiger.

In einem Versuche wurde Hefewasser nur mit Malzwaschwasser infiziert. 20° C. Bei 0—3 Proz. war Fäulnisgeruch zu bemerken. Bei 5 Proz. waren Kahlhefen vorherrschend. 10 Proz. Alkohol verhinderte jede Entwicklung.

III.

Untersuchung über die im Malz ursprünglich vorhandene Säuremenge. Es wurde Darrmalz und ebenso Brennereimalz (Langmalz) mit Wasser oder 1 Proz. Formaldehyd, oder Toluol (gesättigt), oder 2 Proz. Milchsäure, oder 20 Proz. Alkohol bei 50° und 30° 2 Tage ausgezogen. In einigen Versuchsgefäßen wurde durch Aufbewahrung im Eisschranke die Bakterienentwicklung möglichst gehemmt.

Die erhaltenen Säuremengen waren sehr gering: bei Brauereimalz 1,4—1,8 ccm und bei Brennereimalz 1,3—2 ccm (für 10 ccm in ccm $\frac{1}{10}$ N-Natronlauge-Phenolphthalein als Indikator). Durch Abzug dieser Zahlen werden die in obigen Versuchen erhaltenen Säuremengen nicht wesentlich verändert.

IV.

Reinkulturen aus obigen Versuchen wurden von Fruchtätherhefen, *Bacillus subtilis* (Maische + 5 Proz. Alkohol gutes Wachstum), 2 Milchsäurebakterienarten (aus Roggenschrot + 10 Proz. Alkohol), Essigsäurebakterien (aus Kartoffeln + 5 Proz. Alkohol) und *Pediokokken* (Grünmalz + 5 und 10 Proz. und rohen Kartoffeln + 10 Proz. Alkohol) hergestellt. Genauer untersucht wurde nur folgende Art:

Pediococcus Hennebergi n. sp. wurde isoliert aus rohen Kartoffeln mit Zusatz von 10 Proz. Alkohol. Das Wachstum im Stich und auf der Oberfläche ist langsam. Es sind glänzend weiße, unregelmäßig geformte Kolonien. Die 1,2 μ großen Zellen sind meist zu zweien vereinigt, seltener in Ketten.

Es wurde gesäuert: Arabinose (am stärksten), Xylose, Lävulose, Dextrose, Galaktose (stark!) und Maltose — nur wenig Rohrzucker und Milchzucker —, dagegen nicht: Trehalose (?), Dextrin (?), Rhamnose und Raffinose. Diese Befunde, besonders die Malzzucker- und Rohrzuckersäuerung, weichen vom *Pediococcus acidilactici* also ab. Milch gerinnt nur sehr langsam.

Das Säuerungsoptimum in Maische liegt bei ca. 40°, das Maximum bei ca. 50°; bei 20° C ist die Säurebildung sehr langsam. Bisher war die größte Säuremenge 0,95 Proz. inaktive Milchsäure (in Maische). Alkohol und Kohlensäure wird nicht gebildet.

Henneberg (Berlin).

Anm. des Referenten: Ref. konnte auch in vielen anderen Versuchen feststellen, daß manche Milchsäurebakterienarten gegen größere Alkoholmengen sehr widerstandsfähig sind. Nach Sollieds Unter-

suchungen hatten sich also bis 10 Proz. Alkohol noch häufig Milchsäurebakterien (Pediokokken, Streptokokken) entwickelt. Ueber 10 Proz. Alkohol aber finden sich keine Organismen.

Reinke, J., Symbiose von Volvox und Azotobacter. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXI. 1903. p. 481.)

Verf. hat nachgewiesen, daß die Meeresalgen ausnahmslos an ihrer Oberhaut mit Azotobacter besetzt sind. Da dieser Organismus Stickstoff aus der Luft aufnimmt, so liegt die Folgerung nahe, daß die Alge mit diesem gebundenen Stickstoff versorgt wird. Ganz ähnliche Untersuchungen wurden nun für Süßwasseralgen angestellt. Auch hier fand sich ausnahmslos Azotobacter auf der Oberfläche. Als besonders lehrreich wird das Beispiel von Volvox globator angeführt. Eine einzige Kugel davon ergab in Nährlösung eine reiche Entwicklung von Azotobacter und einen Stickstoffgewinn von 11,6 mg. Danach scheinen die nitrifizierenden Bakterien für die Algen dieselbe Bedeutung zu haben wie die Bakterien in den Wurzelknöllchen für die Leguminosen.

Lindau (Berlin).

Jacobitz, E., Beitrag zur Frage der Stickstoffassimilation durch den Bacillus ellenbachensis a Caron. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. XLV. p. 97. 1903.)

1895 züchtete Caron aus der Ackererde seines Gutes Mittelbach bei Cassel einen Mikroorganismus, von welchem er behauptete, derselbe bewirke eine Anreicherung des Bodens mit Stickstoff und werde zur Impfung des Saatgetreides mit bestem Erfolge benutzt. Ob dieser Bacillus, dessen Massen-Reinkulturen als „Alinit“ von den Elberfelder Farbwerken in den Handel gebracht wurden, den Stickstoff organischer Bodenbestandteile aufzuschließen oder ob er durch Assimilation atmosphärischen Stickstoffs die Ernteerträge zu erhöhen vermöge, darüber sprach sich Caron nicht aus. Auch die folgenden zahlreichen Veröffentlichungen über den Bacillus ellenbachensis, welcher mit dem Bac. megatherium de Bary bez. den Heubacillen (Bac. subtilis Cohn) von manchen Autoren identifiziert wurde, brachten keine Lösung der vorerwähnten Frage. Jacobitz suchte nun zu ermitteln, ob der Bacillus ellenbachensis in künstlichen Kulturen den atmosphärischen Stickstoff beträchtlich zu assimilieren und damit eine für die Landwirtschaft wichtige Rolle zu spielen vermöge. Die Versuche stellte J. so an, daß er den N-Gehalt des Nährbodens vor und nach der Impfung bestimmte, nur von gebundenem Stickstoff freie Luft zuführte und dann wiederum den Stickstoffgehalt feststellte. Ueber die weitere Versuchsanordnung und die dabei beobachteten Kautelen muß im Original nachgelesen werden.

Das Ergebnis der Versuche war, daß der Bacillus ellenbachensis in der Tat bei seinem Wachstum in künstlichen Nährflüssigkeiten den freien atmosphärischen Stickstoff der Luft zu binden vermag und daß dieses Vermögen auch dem Bacillus megatherium zukommt, nicht aber dem Bacillus subtilis. Freilich ist die stickstoffaufspeichernde Kraft des Caron'schen

Bacillus eine sehr geringfügige. Am stärksten tritt sie noch in der Beijerinckschen Lösung und bei Zufuhr unveränderter, d. h. gebundenen N-Stoff enthaltender Luft hervor; aber selbst hier bewegte sie sich in so bescheidenen Grenzen, daß sich die Frage aufdrängte, ob nicht bei Verwendung anderer Substrate bessere Erfolge erzielt werden könnten. Es waren jedoch alle dahin zielenden Versuche ohne Erfolg. — Unter den vom Verf. gewählten Versuchsbedingungen ließ sich die dem Bacillus ellenbachensis für die Landwirtschaft zugeschriebene wichtige Rolle nicht nachweisen.

Schill (Dresden).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Prior, E., Hefe als Reagens in der Nahrungsmittelchemie. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrsgs.- u. Genußm. Bd. VI. 1903. p. 916 u. ff.)

Die Hefe wird in der Nahrungsmittelchemie als unentbehrliches Reagens zur Bestimmung und Trennung der vergärbaren Kohlenhydrate von den unvergärbaren angesehen, und zwar sind es die von ihr produzierten Enzyme, welche Veranlassung geben, die Hefe als Reagens zum gedachten Zwecke zu verwenden. Die Gärung hat bekanntlich mit dem Leben der Hefe nichts zu schaffen; die Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure wird durch ein von der lebenden Hefe erzeugtes Enzym, die Zymase, bewirkt. Ferner ist bekannt, daß von den für den Nahrungsmittelchemiker in Betracht kommenden Zuckerarten von der Zymase nur Glykose und Fruktose vergoren werden, daß hingegen die meisten Zuckerarten, darunter die Polysaccharide: Raffinose, Melibiose, Saccharose und Maltose erst eine Umwandlung in eine oder beide der erwähnten Zuckerarten, zu welchen sich bei der Melitriose und Melibiose noch die Galaktose gesellt, erleiden müssen, um von der Zymase gespalten zu werden. Auch diese Umwandlung der direkt nicht vergärbaren in gärfähige Zucker geschieht durch Enzyme, welche das Protoplasma der Hefen abscheidet. Für den Nahrungsmittelchemiker wäre also die Hefe entbehrlich, sobald es gelingt, die erforderlichen Enzyme aus der Hefe rein darzustellen oder synthetisch zu gewinnen; doch ist bisher nur das Invertin dargestellt worden, das jedoch auch kein einheitlicher Körper, sondern ein Produkt unbekannter Zusammensetzung ist.

Wenn man berücksichtigt, daß die Dextrine, welche mittels der Hefe von dem Zucker getrennt werden sollen, durchaus nicht alle gleich vergärbare sind, daß sich darunter neben unvergärbaren schwer vergärbare und vollständig vergärbare Dextrine befinden, daß ein und dasselbe Dextrin für eine Hefe unvergärbare, für eine andere schwer vergärbare, für eine dritte jedoch leicht vergärbare sein kann, daß endlich bei Anwesenheit von Dextrinen die letzten Zuckerreste nie vollständig durch Hefe vergoren werden, so erscheint es fast unmöglich, mittels Hefe eine genaue quantitative Trennung der vergärbaren Kohlenhydrate in Gemischen von leicht-, schwer- und unvergärbaren Kohlenhydraten durchzuführen; auch die Bestimmung

des Dextrins neben Zucker vermittle der bisher angewandten Gär-
methode im Vereine mit der üblichen Bestimmung des Reduktions-
vermögens liefert nur sehr ungenaue Resultate, da auch die Dextrine
Fehlingsche Lösung reduzieren und bei der Inversion von Dextrin
und Zucker nach Sachsse etwa anwesende oder aus Saccharose
gebildete Fruktose zerstört wird.

Unter Berücksichtigung der Enzymsekretion der einzelnen
Hefenarten gibt Verf. folgendes Verfahren zur Analyse einer Saccha-
rose, Glykose, Fruktose, Maltose und Dextrine enthaltenden Flüssig-
keit an.

a) In einem aliquoten Teil der die Kohlenhydrate enthaltenden
Lösung wird die Reduktion in der für Invertzucker angegebenen
Weise bestimmt.

b) In einem zweiten Teil invertiert man die Saccharose nach
Clerget und bestimmt in der invertierten Flüssigkeit wiederum
die Zucker als Invertzucker.

Aus der Differenz zwischen dem Gehalt an Invertzucker von
b und a berechnet sich die Saccharose.

c) Ein dritter Teil der ursprünglichen Lösung wird mit Hefen-
wasser versetzt, gelüftet und mit *Saccharomyces Marxianus* ver-
goren, wodurch man Saccharose, Glykose und Fruktose fortschafft. In
einem Teil der vergorenen Flüssigkeit wird die Reduktion als Invert-
zucker bestimmt. Aus der Differenz zwischen a) und c) ergibt sich
die Menge von Glykose und Fruktose.

Um die Mengen jedes dieser Zucker zu erfahren, sind die
Flüssigkeiten a) und die vergorene Flüssigkeit c) zu polarisieren.

d) In einem kleinen, die Maltose und Dextrine enthaltenden
Gärrückstande von c) bestimmt man nach dem Filtrieren mittels
Fehlingscher Lösung die Reduktion als Maltose.

Der zweite größere Teil des Gärrückstandes von c) wird ent-
geistet, mit etwas Hefenwasser versetzt, mit Hefe vom Typus
Frohberg vergoren und nach der Gärung die Reduktion als
Maltose bestimmt. Die Differenz zwischen der Reduktion der Gär-
rückstände c) und d) gibt die Menge der vorhandenen Maltose an.

e) Der Gärrückstand von d) enthält nur noch Dextrine,
welche in der üblichen Weise nach Sachsse invertiert und als
Glykose bestimmt werden.

f) Will man, was in vielen Fällen, z. B. bei der Honigprüfung
von Wert sein dürfte, die Menge der vergärbaren, d. h. die weiter
abgebauten Dextrine bestimmen, so zerlegt man den Gärrückstand
von d) noch mit Hefe Logos, welche die erwähnten Dextrine ver-
gärt, die der Stärke nahestehenden aber unvergoren läßt.

Aus dem Angeführten folgt, daß es — allerdings auf etwas
umständlichem Wege, der indessen wohl meistens etwas abgekürzt
werden kann — gelingt, die Kohlenhydrate durch Benutzung der
Hefenenzyme in Gemischen zu bestimmen. Doch wären zunächst
noch Versuche mit Mischungen von Zucker und verschiedenen
Dextrinen anzustellen, um die unzweifelhaft vorhandenen Fehler-
quellen kennen zu lernen und so weit als tunlich zu beseitigen
und zu vermeiden.

U t z (Würzburg).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Fürst, Zur Frage des Entkeimens der Kindermilch im Hause. (Archiv f. Kinderheilk. Bd. XXXVIII. Heft 1/2. p. 24.)

Empfehlung des Pasteurisirapparates von Kobrak. Sonst nichts Neues enthaltend. Sommerfeld (Berlin).

Buhlert, Einiges über die Behandlung des Stalldüngers. (Fühl. landw. Ztg. 1903, Heft 17 und 18.)

Verf. schildert eingehend die im Stalldünger vor sich gehenden bakteriologischen Vorgänge, berücksichtigt hierbei besonders die zu Verlusten an Trockensubstanz und Stickstoff führenden Prozesse und führt diejenigen Maßnahmen auf, mit welchen dieser unerwünschten Organistentätigkeit entgegengewirkt werden kann. Er steht auf dem wohl allgemein anerkannten Standpunkt, daß eine sorgfältige und zweckmäßige mechanische Pflege die Grundlage der Stalldüngerbehandlung bilden muß, daß in erster Linie nach dem alten Grundsatz verfahren werden soll, den Dünger feucht und fest zu halten.

Die mechanische Pflege des Stalldüngers kann event. durch Anwendung chemischer Konservierungsmittel ergänzt werden, doch haben sich all die zahlreichen in neuerer Zeit für die Bewahrung des Stalldüngers empfohlenen Mittel nicht bewährt. Sie sind zu wenig wirksam und zu teuer. Wir besitzen, von Erde und Torf vielleicht abgesehen, zur Zeit eigentlich kein Konservierungsmittel, welches allen Anforderungen entspricht, die an ein solches Präparat gestellt werden müssen. Vogel (Posen).

Gerlach und Vogel, Versuche mit dem Stalldünger-Konservierungsmittel Patent Dr. Rippert. (Fühlings landw. Ztg. 1903. Heft 12, p. 409.)

Schneidewind, Versuche mit dem Stalldünger-Bewahrungsmittel Patent Dr. Rippert. (Mitt. d. d. Landw. Ges. 1903. Stück 28.)

Die beiden Veröffentlichungen kommen zu dem gleichen Ergebnis, daß nämlich der mit den Rippertschen Konservierungsmitteln¹⁾ nach Vorschrift behandelte Stalldünger noch sehr große Verluste an Trockensubstanz und Stickstoff erleidet, demnach eine nennenswerte Wirkung jener Präparate nicht zu konstatieren ist. G. und V. stellten bei Laboratoriumsversuchen und auch bei einigen in größerem Maßstabe auf dem Versuchsgute Pentkowo ausgeführten Versuchen fest, daß im günstigsten Falle die Verluste an Trockensubstanz nur um 3,44 %, diejenigen an Stickstoff um 6,64 % durch Zugabe der Rippertschen Präparate vermindert werden können.

Dieser Erfolg war ein ganz unzureichender, da die Ausgabe für die verwendeten Konservierungsmittel größer war, als der Wert des gewonnenen Stickstoffs. In den Rippertschen Präparaten übt nur die im Präparat I in einer Menge von etwa 3—6 % enthaltene freie Schwefelsäure eine konservierende Wirkung aus, das in Form

1) siehe diese Zeitschr. Bd. X., p. 492.

von Fluorcalcium im Präparat II enthaltene Fluor tritt nicht in Aktion, ist also vollkommen belanglos.

Bei den auf dem Versuchsgut Lauchstädt ausgeführten Schneidewindschen Versuchen waren die Stickstoffverluste in dem behandelten Stalldünger noch etwas höher als in dem nicht behandelten, der nach Rippert konservierte Dünger wirkte weder in Vegetationsgefäßen noch auf freiem Lande besser als unbehandelter.

Vogel (Posen).

Schulze, C., Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwicklung der Pflanzen. (Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. Jahrg. I. 1903. p. 36.)

Bei Versuchen, welche den Einfluß der Mikroorganismen des Bodens auf das Gedeihen höherer Pflanzen zu ermitteln streben und bei welchen mit sterilisiertem Boden gearbeitet werden muß, wird vielfach zu wenig beachtet, daß nicht nur durch Abtötung der Mikroorganismen (in physiologischer Hinsicht) die Eigenschaften eines solchen Bodens einer Aenderung unterliegen, sondern auch durch den Vorgang des Sterilisierens (in chemisch-physikalischer Hinsicht) dem Boden andere Eigenschaften erteilt werden, sei es daß die Fruchtbarkeit durch Aufschließen schwerlöslicher Stoffe erhöht, sei es, daß durch das Sterilisieren im Boden Stoffe entstehen (meist humöser Natur), welche auf das Wachstum der Pflanzen einen ungünstigen Einfluß haben können. Verf. hat diese rein chemisch-physikalische Wirkung des Sterilisierens (unabhängig von der physiologischen) einer Untersuchung unterzogen und kommt zu Resultaten, welche für alle, die mit Untersuchungen über die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens beschäftigt sind, recht beachtenswert erscheinen. Es zeigte sich, daß die Sterilisation Störungen im Wachstum der Pflanzen zur Folge hat. Indessen sind diese Störungen verschieden, je nachdem ob Acker-, Wiesen- oder Gartenboden verwendet wurde. Die am ungünstigsten wirkenden Stoffe entstanden bei der Sterilisation des Wiesenbodens, geringer war die störende Wirkung bei Acker-, am geringsten bei Gartenboden. Ferner zeigten die zu den Versuchen verwendeten Pflanzen einen sehr verschiedenen hohen Grad von Empfindlichkeit. So erwies sich Hafer als wenig empfindlich, Senf dagegen als sehr empfindlich. Die Gesamternte letzterer Pflanze betrug in sterilisiertem Boden 26 gegen 100 im nichtsterilisierten Boden.

Was hingegen den N-Gehalt der Versuchspflanzen anlangt, so ergab sich, daß fast überall hohe Mehrernten an Stickstoffgehalt in den sterilisierten Böden erzielt wurden, selbst da, wo durch die Sterilisation die Gesamternte herabgedrückt wurde. Diese Tatsache muß bei Impfversuchen mit vermeintlich Stickstoff assimilierenden Bakterien wohl beachtet werden, wenn nicht Fehlschlüsse gezogen werden sollen.

Neger (Eisenach).

Causemann-Merkenich, Die sehr verschiedene Wirkung eines gut oder schlecht durchlüfteten Bodens in Bezug auf Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge. (Deutsche landw. Presse. 1903. No. 98.)

Verf. schildert auf Grund seiner praktischen Erfahrungen den äußerst günstigen Einfluß einer energischen Lockerung und Durchlüftung der Ackerkrume bei gleichzeitiger kräftiger Erschließung des Untergrundes auf die Gesunderhaltung der Kulturpflanzen. „Diese Oeffnung der oberen und unteren Bodenschichten wirkt doppelt wertvoll dadurch, daß sie zugleich die besten Bedingungen gesunder und kraftvoller Entfaltung schafft, aber auch durch kräftige Bodenlüftung den Schädlingen und Krankheitspilzen einen günstigen Nährboden im Acker völlig entzieht.“

C. weist auf die Gefahren hin, die das tiefe Unterpflügen von Stall- und Gründünger dadurch mit sich bringt, daß durch die dicke auf dem Dünger lagernde Erdschicht der Zutritt der Luft gehindert wird und dadurch äußerst günstige Bedingungen für die Entwicklung von Pilzen aller Art in der unten eingeschlossenen Luft geschaffen werden. Verf. erwähnt u. A. die Versuche Hollrungs, der durch flaches Unterpflügen des Stalldüngers (6 Zoll anstatt wie vorher 12—16 Zoll) den Ertrag der Zuckerrübenenernte nahezu verdoppeln konnte und die Nematoden vollständig zum Verschwinden brachte. Hollrung erklärt diesen ausgezeichneten Erfolg dadurch, daß bei dem flachen Unterbringen des Düngers der Untergrund unberührt bleibt, keine Lockerung erfährt, und daß dadurch die Lebensbedingungen für die Pflanzenschädlinge ungünstigere würden. C. sieht dagegen den Grund für die gute Wirkung des flach untergebrachten Düngers nicht im festeren Verschuß des Untergrundes, sondern in der besseren Oeffnung der oberen Ackerkrume und hält, wie erwähnt, eine gleichzeitige ausreichende Aufschließung der tieferen Bodenschichten für äußerst günstig.

Vogel (Posen).

Aderhold, R., Der heutige Stand unserer Kenntnisse über die Wirkung und Verwertung der Bordeauxbrühe als Pflanzenschutzmittel. (Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. Jahrg. I. 1903. p. 12—36.)

Aus der Darstellung des Verf. mögen folgende wichtigste Tatsachen hervorgehoben werden:

Als günstigste und vollkommen ausreichende Konzentration der zur Verwendung kommenden Kupfervitriollösung kann der Gehalt von 1 Proz. bezeichnet werden. Wenn auch 1 Teil Calciumoxyd fast 4 Teile Kupfervitriol zu neutralisieren vermag, so empfiehlt sich (besonders bei empfindlicheren Organen) ein größerer Kalkzusatz.

Von anderen (die Klebkraft erhöhenden, die fungizide Wirkung steigernden, oder eine gleichzeitig insektizide Wirkung erzielenden) Zusätzen, hat sich bisher noch keiner allgemeiner eingeführt. Für die Herstellung der Brühe haben sich am besten die amerikanische (Kupferlösung und Kalkmilch werden gleichzeitig in gleich starkem Strahl in ein drittes Gefäß gegossen) und die Kehlhofer'sche Mischungsmethode (Eingießen der Kupferlösung in die Kalkmilch in dünnem Strahl unter Umrühren) bewährt. Die Anwendung der Bordeauxbrühe ist vielseitig, wie daraus hervorgeht, daß sie gegenwärtig gegen nahezu 50 Pflanzenkrankheiten gebraucht wird.

Was endlich die Wirkungsweise der Brühe anlangt, so unterzieht Verf. eine Reihe darauf bezüglicher Arbeiten einer eingehenden Kritik und kommt schließlich zu folgendem Resultat: Es liegt viel Wahrscheinlichkeit dafür vor, daß unter Mitwirkung von exosmierenden Blatt- und Pilzzellbestandteilen genügende Mengen Kupferhydroxyd in Lösung übergeführt werden, um einerseits die Pilzsporen oder Keime abzutöten, andererseits ins Blatt einzudringen. Je nach ihrer Menge und je nach der spezifischen Empfindlichkeit der Pflanze, wirken sie entweder schädigend oder fördernd. Die eindringende Menge ist von äußeren Verhältnissen, welche auf die Dicke der Cuticula Einfluß haben, abhängig und deshalb überwiegt bei empfindlichen Pflanzen oder Pflanzenteilen bald die eine, bald die andere Wirkungsweise und deshalb treten die Schäden in manchen Jahren häufiger auf als in anderen.

Neger (Eisenach).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. OTTO HAMANN,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. Jg. I. 1903. Berlin (Bornträger) 1904. 4 M.

Theobald, Fred. V., First report on economic Zoology. British Museum (Natural History). London. Brit. Mus. 1903. 192 p. 8°. 17 Fig.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Christiani, H., Aéroscopie bactériologique s'adaptant aux différents tubes de culture. (Compt. rend. soc. biol. T. LVI. 1904. N. 1. p. 38—41. 1 Fig.)

Fischer, Hugo, Ein einfaches Verfahren, Nähragar ohne Filtration zu klären. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 527.)

Jäger, H., Das Agglutinoskop, ein Apparat zur Errichtung der makroskopischen Beobachtung der Agglutination im Reagenzglas. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 521—523. 1 Fig.)

Lode, Alois, Versuche, die optische Lichtintensität bei Leuchtbakterien zu bestimmen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 524—527.)

Neide, E., Die Alkoholentfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien als Speciesdiagnose, in Verbindung mit einer Untersuchung der für die Gram-Färbung in Betracht kommenden Faktoren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 508—521. 1 Taf.)

Nissle, A. und Wagner, O., Zur Untersuchungstechnik von Eiern und Larven des Ankylostomum duodenalis. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 2. p. 57—60.)

Stephens, J. W. W., Note on the staining of bacterial flagella with silver. (Thompson Yates and Johnston Laborat. Rep. T. V. 1903. Fasc. 1. p. 119—122.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Compere, G., In search of parasites. (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 6. p. 518—524.)

Hefferan, Mary, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 11/12. p. 397—404.)

Klein, E., Ein neuer tierpathogener Mikrobe — Bacillus carnis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 459—461.)

Macfadyen, Allan und Rowland, Sydney, Ueber die intracellulären Toxine gewisser Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 415—416.)

Omeliński, W., Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 12/13. p. 369—377.)

- Petrie, G. F.**, A note on the occurrence of a Trypanosome in the rabbit. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 484—486.)
- Plehn, Marianne**, Bacterium cyprinicida n. sp., der Erreger der Rotsenke der karpfenartigen Fische. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 461—467. 1 Taf.)
- Preiss, H.**, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus (mit besonderer Berücksichtigung der Sporenbildung auch bei anderen Bacillen). [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 416—434. 2 Taf.)
- Simon, F. B.**, Untersuchungen über die Gifte der Streptokokken. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 440—451.)
- Stift, A.**, Ueber das Auftreten des Spaltpilzes Crenothrix polyspora im Luftpumpenwasser einer Zuckerfabrik. (Oesterr.-ungar. Ztschr. f. Zuckerind. u. Landw. Jg. XXXII. 1903. Heft 6. p. 929—931.)
- Stüchtig, H.**, Kritische Studien über die Knöllchenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. N. 12/13. p. 377—388.)
- Taniguchi, N.**, Ueber Filaria Bankrofti. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 492—500. 3 Fig.)
- Thurstan, E. Paget**, Lectures on Bacteria. Lecture 3. Bacteria as enemies. (Journ. of the Depart. of agricult. of Western Australia. Vol. VIII. 1903. P. 6. p. 525—539. 7 Fig.)
- Vaney, C. et Conte, A.**, Utilisation des champignons entomophytes pour la destruction des larves d'Altises. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXVIII. 1904. N. 3. p. 159—161.)
- Weis, Fr.**, Etudes sur les enzymes protéolytiques de l'orge en Germination. (Compt. rend. Laborat. de Carlsberg. T. V. 1903. p. 133—285.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

- Engels**, Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz: „Ueber die Trinkwasserdesinfektion mit Jod nach Vaillard“ von Gust. Obermaier, Militärapothecker. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. N. 4. p. 506—508.)

Fleisch.

- Fischhoeder, F.**, Leitfaden der praktischen Fleischschau einschließlich der Trichinenschau. 6. Aufl. Berlin (Schoetz) 1903. XII, 262 p. M. Fig. 5 M.

Milch, Molkerei.

- Bernstein**, Hygienische Folge des Erhitzens der Milch. (Dtsche Landwirtschafts-Ztg. Jg. XLVII. 1904. N. 4. p. 23—24.)
- Formalinmilch** für die Säuglingsernährung, ein neues Verfahren von Behrings zur Verhütung der Schwindsuchtsübertragung durch Milch. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XIV. 1904. N. 4. p. 37—38.)
- Fürst**, Zur Frage des Entkeimens der Kindermilch im Hause. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXXVIII. 1903. Heft 1/2. p. 24—30.)
- Peter, A.**, Ueber bakteriologische Eigenschaften der „Kessmilch“ vor und nach dem Labzusatz, verglichen mit dem Ausfall der daraus hergestellten Emmenthalerkäse. 16. Jahresber. d. Molkereischule Rütli-Zollikofen. 1903. (Ref. in Schweizer. Landv. Centralbl. Jg. XXII. 1903. Heft 12. p. 380—382.)
- Rullmann, W.**, Ueber Reaktionen des oxydierenden Enzyms der Kuh- und Frauenmilch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. VII. 1904. Heft 2. p. 81—89.)
- Theen, H.**, Käsigwerden der Milch. (Dtsche Landwirtschafts-Ztg. Jg. XLVII. 1904. N. 1. p. 1.)
- Van Slyke, L. L., Harding, H. A. and Hart, E. B.**, Rennet enzyme as a cause of chemical changes in the proteids of milk and cheese. (Journ. of the American chem. soc. Vol. XXV. 1903. N. 12. p. 1243—1256.)

Wein, Weinbereitung.

- Guénaux, G.**, La mannite dans les vins Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 4. p. 14.)

Bier, Brauerei.

- Heyder, F.**, Ueber Infektionsgefahren des Faßtürls und der Anzapfbüchse. (Wehnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 4. p. 53—54.)

Schidrowitz, Ph., Some experiments on the proteolytic enzyme of malt. (Journ. of the fed. inst. of brewing. T. IX. 1903. p. 361—382.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Bericht über die Tätigkeit der K. B. Station für Pflanzenschutz und Pflanzenkrankheiten in den Jahren 1901 und 1902. [Forts.] (Vierteljahresschr. d. Bayer. Landwirtschaftsrates. Jg. VIII. 1903. Heft 4. p. 640—668.)

Bonanse, S., Contribution à l'étude de quelques maladies cryptogamiques des céréales au Mexique. (Mem. y Rev. de la soc. científ. „Antonio Alzate“. Mexico. T. XVIII. 1902. N. 3. p. 125—136, 137—142.)

Bussen, Franz, Bekämpfung der Pflanzenschädlinge. (Dtsche Landwirtschafts-Ztg. Jg. XLVII. 1904. N. 2. p. 7—8.)

Inhalt.

Originalreferate aus bakteriol. und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Bakt. Inst. d. polyt. Schule in Delft:
van Iterson jr., C., Die Zersetzung von Cellulose durch aërobe Mikroorganismen, p. 689.

Bakteriologisches Laboratorium der Linné-Gesellschaft von Neu-Süd-Wales:

Smith, R. Greig, Der bakterielle Ursprung der Gummiarten der Arabingruppe, p. 698.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Mikrobiologische Gesellschaft zu Petersburg.

Omellianski, W., Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose, p. 703.

—, Ueber die Ausscheidung des Methans in der Natur bei biologischen Prozessen, p. 704.

Referate.

Buchner, Eduard und Meisenheimer, Jakob, Ueber die Enzyme von *Monilia candida* und einer Milchzuckerhefe, p. 706.

Foà e Chiapella, Ricerche sopra un nuovo microorganismo fosforescente sperimentale, p. 705.

Jacobitz, E., Beitrag zur Frage der Stickstoffassimilation durch den *Bacillus ellenbachensis* a Caron, p. 712.

Janssens, A propos du noyau de la levure, p. 707.

Münzer, E., Dauerhefe und Gärungsprobe, p. 707.

Petri, L., Ricerche sul genere *Streptothrix*, p. 704.

Reinke, J., Symbiose von *Volvox* und *Azotobacter*, p. 712.

Sollied, Peter Ravn, Studien über den Einfluß von Alkohol auf die an verschiedenen Brauerei- und Brennereimaterialien sich vorfindenden Organismen, sowie Beschreibung einer gegen Alkohol sehr widerstandsfähigen neuen *Pediococcus*-Art (*Pediococcus Hennebergi* n. sp.), p. 708.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Prior, E., Hefe als Reagens in der Nahrungsmittelchemie, p. 713.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Aderhold, R., Der heutige Stand unserer Kenntnisse über die Wirkung und Verwertung der Bordeauxbrühe als Pflanzenschutzmittel, p. 717.

Buhlert, Einiges über die Behandlung des Stalldüngers, p. 715.

Causemann - Merkenich, Die sehr verschiedene Wirkung eines gut oder schlecht durchlüfteten Bodens in bezug auf Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge, p. 716.

Fürst, Zur Frage des Entkeimens der Kindermilch im Hause, p. 715.

Gerlach und Vogel, Versuche mit dem Stalldünger-Konservierungsmittel Patent Dr. Rippert, p. 715.

Schneidewind, Versuche mit dem Stalldünger-Bewahrungsmittel Patent Dr. Rippert, p. 715.

Schulze, C., Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwicklung der Pflanzen, p. 716.

Neue Litteratur, p. 718.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr.
Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3^I.
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XL. Band.

Jena, den 16. April 1904.

No. 24/25.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

**Sur quelques bactéries chromogènes isolées d'une eau
de source.**

Par M. Louis Gaucher, Montpellier.

Avec 1 taf.

Les bactéries, dont il s'agit, ont été isolées d'une eau de source,
située en montagne à 7—800 m. d'altitude.

Elles présentent, au point de vue des conditions dans lesquelles
leur pigment se produit, des particularités, qu'il m'a paru intéres-
sant de signaler.

Caractères microscopiques et pathogènes. — Ce
sont des *Micrococcus* rappelants dans leur façon de se grouper

Zweite Abt. Bd. XI.

46

la disposition du staphylocoque. Elles ne prennent pas le Gram et inoculées, à diverses reprises, à des lapins, n'ont donné aucun résultat.

Caractères des cultures. Ces bactéries se développent très bien sur tous les milieux de culture ordinaires, à une température qui est en moyenne de 35°.

Deux d'entre elles que je désignerai provisoirement par les lettres α et β donnent, dans le bouillon, un trouble abondant au haut de 48 h., en même temps qu'il se forme à la surface un voile blanc d'où pendent des filaments d'aspect cotonneux, nombreux surtout contre les parois, glissant ensuite sur celles-ci, et venant finalement former un dépôt plus ou moins volumineux au fond du tube.

Sur gélatine, en piqûre, il se fait en deux jours une colonie blanchâtre à la surface, à contour irrégulier et comme entamée sur les bords; en même temps la gélatine commence à se liquifier; la colonie s'enfonce peu à peu dans la masse liquide et flotte vers le 4^e, ou le 5^e jour dans un large puits de liquéfaction. Ce puits est de forme cylindrique et, du centre de sa base, descend, dans la gélatine encore solide, le reste du canal de la piqûre, sous forme d'une ligne blanche.

Sur gélose il se produit en 48 h. une belle culture épaisse et blanche en forme de spatule. Les bords en sont lobés et l'aspect de la colonie dans son ensemble ne saurait être mieux comparé qu'à de la cire solidifiée (fig. 1).

Cultivées sur pomme de terre, ces bactéries se développent plus lentement que sur les milieux peptonés. Néanmoins la multiplication qui est apparente vers le 5^e jour détermine, au bout d'une semaine, la formation d'une culture blanche hérissée de petites tubérosités et peu étendue.

Ces microbes donnent la fermentation lactique, ainsi qu'on peut s'en convaincre en les ensementant dans du lait tournesolé, dans du bouillon ou de la gélatine lactosés et tournesolés. La réaction est toutefois très lente à se produire. Il faut 20 jours pour obtenir le virage au rouge du tournesol et un mois pour que la caséine du lait soit coagulée.

Pouvoir chromogène. — Le caractère, le plus intéressant de ces microbes, est la faculté qu'ils possèdent de devenir chromogènes au bout d'un certain temps de séjour dans les milieux de culture. Dans le bouillon, la forme α vire au jaune clair au haut d'une quinzaine de jours. Il en est de même sur gélose, quoique la coloration y soit moins marquée et ne se manifeste qu'en certaines places où elle pique de points jaunes la surface blanche de la colonie. Avec la forme β au contraire c'est dans les cultures sur gélose que le pouvoir chromogène se manifeste le mieux. Mais ici, chose remarquable, la teinte qui était passée au jaune après 15 jours, ne tarde pas à virer ensuite au rouge vif. Dans cette forme, comme dans la précédente, la pigmentation ne s'étend pas à toute la culture, et n'a lieu que suivant une bande

étroite et médiane (fig. 2). Un examen plus attentif montre que ce sont encore de petits points, des tubérosités hérissantes la surface de la culture qui se sont ainsi colorés. Je ferai remarquer dès maintenant qu'il s'agit là précisément des parties les plus âgées, de celles qui se sont développées les premières aux dépens des germes laissés par le fil de platine. Tout le reste de la culture demeure complètement blanc. Les choses se passent de même avec les cultures sur pomme de terre, bien que la coloration soit restreinte ici à quelques points rouges peu nombreux, mais occupant néanmoins toujours le centre, c'est à dire la partie la plus ancienne d'une colonie (fig. 3). J'ai essayé de me rendre compte, si la coloration une fois acquise persistait dans les générations nouvelles; mais malgré mes tentatives, les parties rouges des culturesensemencées dans divers milieux se sont toujours montrées stériles.

Au point de vue systématique, les caractères qui viennent d'être assignés à ces microbes ne les rapprochent d'aucune des espèces chromogènes décrites jusqu'ici. Je compte d'ailleurs revenir, dans une prochaine note sur la place qui me semble devoir leur être attribuée dans la classification.

Je ne retiendrai pour le moment que le fait de l'apparition si tardive de leur pigment. Nos connaissances sur les bactéries chromogènes nous montrent que d'une manière générale la pigmentation apparaît dès le début du développement et persiste ensuite jusqu'à la fin, et que, si elle présente des modifications, ce n'est guère qu'avec les milieux différents sur lesquels on peut ensemer une seule et même espèce bactérienne. Or, il s'agit ici au contraire, de formes microbiennes qui, sur un seul et même milieu peuvent donner, un et parfois deux pigments différents et cela seulement dans la dernière phase de leur évolution. Le phénomène est donc tout spécial et il m'a paru intéressant de le décrire. Quant à la véritable nature de cette pigmentation d'un caractère tout particulier, ce n'est pas dans les données sommaires qu'on vient de lire qu'on peut la chercher. Etant donné toutefois que le pigment apparaît à la fin du développement et alors que la cellule a perdu au moins en partie sa vitalité puisqu'elle est incapable de se multiplier, sa formation me paraît être un phénomène morbide, une sorte de dégénérescence sénile, plutôt que tout autre phénomène biologique. En tout cas, les expériences que je poursuis fourniront peut-être, sinon une solution à cette question, du moins des indications sur le sens dans lequel cette solution doit être cherchée.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung steriler und in Gärung befindlicher organischer Stoffe auf die Löslichkeit der Phosphorsäure des Tricalciumphosphats.

[Aus dem hygienischen Institute der Alexander - Universität zu Helsingfors; Direktor Prof. Dr. Taav. Laitinen.]

Von Axel Stålström, Agronom in Forssa (Finland).

Untersuchungen verschiedener Forscher haben deutlich dargetan, daß die Fähigkeit des Wassers, auf Mineral-, Berg- und Erdenarten lösend einzuwirken, durch die Anwesenheit von Säuren und Salzen beträchtlich erhöht wird. Bei der Zersetzung organischer Stoffe — einem Vorgange, welcher bekanntlich auf der Tätigkeit mikroskopischer Lebewesen beruht — werden, nebst anderen Umwandlungsprodukten, auch Säuren und Salze gebildet. In Gärung befindlichen organischen Stoffen muß demnach die Fähigkeit zukommen, auf Mineralien lösend einzuwirken. Daß dagegen sterile organische Stoffe diese Fähigkeit nicht besitzen können, läßt sich daraus ersehen, daß, wie verschiedene Versuche ergeben haben, bei Sterilität keine Zersetzungen stattfinden und somit keine Umwandlungsprodukte entstehen.

In der Form von Stallmist, Humuserde und dergleichen werden dem Ackerboden beträchtliche Mengen organischer Stoffe zugeführt. Daß diese organischen Stoffe auf die Ackererde eine vielseitige, wohltuende physikalische Einwirkung ausüben, und daß sie eine langsam, aber sicher wirkende Quelle zur Erlangung der für die Gewächse aufnehmbaren Stickstoffnahrung darstellen — ist dem praktischen Landwirt bekannt und wird von ihm anerkannt. Dagegen ist ihm recht wenig bekannt, daß die im Ackerboden enthaltenen organischen Stoffe auch dazu beitragen, die daselbst vorhandenen ungelösten Mineralien löslich und für die Pflanzen assimilierbar zu machen. Noch weniger ist es dem praktischen Landwirte zum Bewußtsein gekommen, daß die soeben angedeutete lösende Einwirkung auf Mineralstoffe nur solchen organischen Stoffen zukommt, die sich in Gärung befinden, oder mit anderen Worten, daß sie auf der Tätigkeit von Mikroorganismen beruht.

Von den Betreibern des wissenschaftlichen Ackerbaues ist die lösende Einwirkung gärender organischer Stoffe auf die im Boden enthaltenen Mineralstoffe häufig betont worden. Als Beispiel hierfür sei nur angeführt, daß schon der Grundleger der Mineral- und Hauptgegner der Humustheorie, Liebig, hinsichtlich der Kohlensäure, in deren Bildung aus organischer Substanz er jedoch einen rein chemischen Vorgang erblickt, bemerkt: „In gleicher Weise hat die Kohlensäure nicht nur einen Ernährungswert für die Pflanze, insofern sie ihr den Kohlenstoff für ihre kohlenstoffhaltigen Gebilde liefert, sondern sie hat für die Ernährung auch den besonderen Wert, daß sie gewisse Nährstoffe im Boden, welche das Wasser nicht löst, löslich und für die Gewächse aufnehmbar macht“¹⁾.

¹⁾ Liebig, Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie. 9. Aufl. p. 94.

Ueber dieselbe Frage spricht sich Wollny folgendermaßen aus: „Nach den mitgeteilten Daten üben die Humusstoffe dadurch eine günstige Wirkung auf den Boden aus, daß sie durch Bildung von Kohlensäure die Lösung resp. die Verwitterung gewisser ungelöster Mineralien wesentlich fördern und auch dadurch zur Vermehrung des Nährstoffvorrates im Boden beitragen . . . Gleichergestalt wie die Kohlensäure, übt auch das bei der Verwesung entstehende Ammoniak einen lösenden Einfluß auf noch unzersetzte Mineralien aus, besonders dann, wenn das Wasser gleichzeitig mit Kohlensäure geschwängert ist“¹⁾.

Wollny sowohl als andere Forscher auf dem Gebiete der Landwirtschaft führen indessen als Stützen für ihre Aussagen hinsichtlich der lösenden Einwirkung gärender organischer Stoffe auf Mineralstoffe die gleichen Erwägungen an, welche oben einleitungsweise auseinandergesetzt wurden. Auf vollständige Untersuchungen, welche sowohl bakteriologische als chemische Momente gleichzeitig umfaßt hätten, können sie sich nicht berufen. Ob die organischen Stoffe vermöge der Tätigkeit der Bakterien imstande sind, auf Mineralien einen lösenden Einfluß auszuüben, der sich nicht allein theoretisch ableiten, sondern auch in der Praxis durch Versuche nachweisen läßt, ist daher eine Frage, die bisher recht wenig untersucht worden ist. Nur in Bezug auf das Knochenmehl weiß man nämlich, daß, wenn die organische Substanz dieses Präparates einem Gärungsprozeß anheimfällt, die Löslichkeit der Phosphorsäure der Knochenerde von den Umwandlungsprodukten deutlich beeinflusst wird. Dies geht direkt aus den vollständigen und interessanten Untersuchungen von Stoklasa²⁾ hervor. Indirekt wiederum kann man auf ein derartiges Verhalten schließen auf Grund gewisser von Kellner und Rindell angestellter Versuche, welche dargetan haben, daß die Phosphorsäurewirkung des rohen Knochenmehls stärker ist als die des dampfpräparierten. Dieses Verhalten muß nämlich, wenigstens in der Hauptsache, darauf beruhen, daß das rohe Knochenmehl infolge seines größeren Gehaltes an organischer Substanz den Bakterien ermöglicht, durch ausgiebigere Bildung von Umwandlungsprodukten die Löslichkeit der Phosphorsäure entsprechend intensiver zu beeinflussen.

Durch einige Untersuchungen, bei denen gleichzeitig sowohl chemischen als bakteriologischen Momenten Aufmerksamkeit gewidmet worden ist, habe ich versucht, den lösenden Einfluß organischer Stoffe auf Mineralien genauer zu ermitteln und zugleich festzustellen, inwiefern dieser Einfluß durch die Tätigkeit von Mikroorganismen bedingt wird. Ueber diese Untersuchungen, deren Ergebnisse sich in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt finden, soll hier kurz berichtet werden. Zunächst jedoch sei hervorgehoben, daß diese Untersuchungen nur als vorbereitende zu gelten haben, und daß sie veröffentlicht werden, nur um die Aufmerksamkeit der Agrikulturbakteriologen auf ein bisher wenig erforschtes Gebiet, dessen genauere Kenntnis aber für den praktischen Land-

1) Wollny, Die Zersetzung der organischen Stoffe. p. 283.

2) Centralblatt für Bakteriologie u. s. w. Abt. II. Bd. VI.

wirt von großer Wichtigkeit sein würde, zu lenken. Hand in Hand mit der erfreulicherweise immer ausgedehnteren Anwendung von künstlichen Düngemitteln hat sich nämlich ein Zurückgehen der Anwendung des altbewährten Bodenverbesserungsmittels, der Humuserde, bemerkbar gemacht. Dadurch, daß der Landwirt von dem lösenden Einflusse gärender organischer Stoffe auf die Mineralien, deren Bedeutung er heutzutage in vollem Maße würdigt, eine vollständigere Kenntnis gewänne, würde sich indessen nicht nur eine ausgiebigere Anwendung der billigen, leicht zugänglichen Humuserde, sondern auch eine genauere Beachtung solcher Verhältnisse erzielen lassen, durch welche das Gedeihen der Bakterien im Ackerboden gefördert werden könnte.

Das bei meinen Versuchen gebrauchte Tricalciumphosphat wurde von der Firma Merck in Darmstadt bezogen und enthielt 40,75 Proz. P_2O_5 . Zur Vermeidung eines ungleichen Feinheitsgrades bei den verschiedenen Versuchen des Präparates wurde das Tricalciumphosphat durch ein Sieb aus Seidenstoff gesiebt.

Durch wiederholte Versuche wurde ein reichlicher Bakteriengehalt der in Anwendung gebrachten Humuserde, Torfstreu und sauren Milch konstatiert. Welche Bakterien-species in diesen Versuchsmaterialien vorkamen, wurde nicht zum Gegenstande der Untersuchung gemacht. Ebensowenig wurde eine Bestimmung der am Ende der Versuchszeit vorherrschenden Bakterienarten vorgenommen.

Nachdem in die Versuchsflaschen die in der Tabelle angegebenen resp. Mengen Versuchsmaterial gebracht worden waren, wurden die Flaschenmündungen mit Watte verschlossen, worauf die Sterilisierung der hierzu bestimmten Flaschen vollzogen wurde. Letzterer Prozeß dauerte — von der Zeit an gerechnet, als der Druck im Autoklaven auf etwa 2 Atmosphären gestiegen war — eine halbe Stunde. Daß die Sterilisierung gründlich genug war, geht daraus hervor, daß in den sterilisierten Flaschen, nach Schluß der Versuchszeit, in keinem Falle Bakterien nachgewiesen werden konnten.

Mit Ausnahme der No. 33—36, welche bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, standen die Flaschen im Thermostaten bei einer Temperatur von $37,5^{\circ} C$.

Die Versuchsflaschen wurden zwei- bis dreimal täglich umgeschüttelt. Nach dem Schütteln setzte sich zuerst das Tricalciumphosphat am Boden der Flasche ab. Hierbei war es recht interessant, zu beobachten, wie in den Flaschen 1, 2, 5 und 6 die Menge dieser Substanz allmählich abnahm, während in den Flaschen 3, 4 und 7 keine Abnahme bemerkt werden konnte. In den Flaschen 24 und 25 zeigte sich ebenfalls, im Vergleich mit No. 26 und 27, eine merkbare Abnahme der resp. Tricalciumphosphatmengen.

Um durch erforderliche Reagentien die Kohlensäure- und Ammoniakentwicklung zu konstatieren, und um mittelst des Geruches eine etwaige Milch- oder Buttersäuregärung zu erkennen, wurden in die Versuche noch andere Flaschen als die in der Tabelle aufgezählten, einbezogen. Nach 7—10 Tagen wurde in den

Flaschen, welche Torf, Torfstreu-Dung und Bouillon enthielten, eine Gasentwicklung beobachtet, die sich durch das Auftreten von Gasbläschen am Boden und an der Seitenwand der Flaschen deutlich zu erkennen gab. In solchen Flaschen wurde wiederholt Kohlensäure- bzw. Ammoniakentwicklung festgestellt. In Flaschen, welche, wie No. 24 und 25, Milchzucker und Torf enthielten, ließ sich schon nach 5 Tagen ein deutlicher Buttersäuregeruch wahrnehmen. Nach Schluß der Versuchszeit war dieser Geruch in den Flaschen 24 und 25 sehr stark ausgeprägt. In den Flaschen 1, 2, 5 und 6 begann nach ca. 5 Stunden ein Kaseinniederschlag aufzutreten, und nach Schluß der Versuchszeit war ein sehr stark hervortretender Milchsäuregeruch vorhanden. Abgesehen von den Flaschen, welche Milch enthielten, hatte der Inhalt sämtlicher sterilisierter Flaschen einen süßlichen, an Malz erinnernden Geruch.

Die in der Tabelle enthaltenen Angaben über die Menge der nach Schluß der Versuchszeit vorhandenen Bakterien beziehen sich auf die Bakterienzahl in derjenigen Menge des jeweiligen Versuchsmateriales, welche mittelst einer Platinöse hervorgeholt wurde. Da diese Menge natürlich bedeutend wechselte, konnte selbstverständlich auf eine Uebereinstimmung der Bakterienzahl in gleich behandelten Flaschen nicht gut gerechnet werden. Diese die Bakterienmenge betreffenden Schwankungen und deren Ursachen sind jedoch bei diesen Versuchen nicht von Belang. Denn es handelt sich ja hier nur darum, die An- und Abwesenheit von Bakterien festzustellen.

Bei den Untersuchungen kamen im allgemeinen nur aërobe Kulturen zur Anwendung. Mit Material aus den Flaschen 24 und 25 wurden außerdem anaërobe Kulturen [nach Esmarch ¹⁾] angelegt; indessen traten hier nur an der Oberfläche einige wenige Kolonien auf.

Bei der Impfung wurden alle üblichen Vorsichtsmaßregeln befolgt. Die Zählung der Bakterienkolonien, welche mit Hilfe des Wolffhügelschen Apparates ausgeführt wurde, erfolgte 2—5 Tage nach der Impfung. Platten, die mit Material aus sterilisierten Flaschen geimpft worden waren, verblieben jedoch während längerer Zeit unter Beobachtung.

Da frühere Analysen ergeben hatten, daß eine Kohlensäure-Ammoniakgärung keinen vollkommen deutlich lösenden Einfluß auf die im Tricalciumphosphat enthaltene Phosphorsäure ausübte, so nahm ich an, daß dieses Verhalten durch ungenügende Luftzufuhr bedingt wurde. Um mir womöglich hierüber Klarheit zu verschaffen, habe ich in einer Versuchsreihe sterilisierte Luft durch die Versuchsflaschen geleitet. Diese Versuchsreihe, welche in der Tabelle unter den No. 33—36 zu finden ist, erforderte einen ziemlich komplizierten Apparat, sowie die größte Raschheit beim Zusammenfügen der verschiedenen sterilisierten Teile des Apparates. Durch Saugung mittelst fließenden Wassers wurde die Luft zuerst durch ein mit steriler Watte gefülltes Rohr, sodann durch Flaschen, die mit Schwefelsäure bzw. Kalilauge gefüllt waren, sowie endlich

1) Hueppe, Die Methoden der Bakterienforschung. 5. Auflage. p. 357.

durch die Versuchsflaschen geleitet, von denen No. 35 und 36 sterilisiert waren. Von der mit KOH gefüllten Flasche aus wurde die Luft nach den 4 Versuchsflaschen verteilt und von diesen wiederum nach einer mit dem Saugapparat in Verbindung stehenden Flasche geleitet. Indessen ergab diese Versuchsreihe kein befriedigendes Resultat. Denn nach diesem würde, wie aus der Tabelle hervorgeht, in der Flasche 34 die Menge der gelösten Phosphorsäure auffällig groß gewesen sein, ja sogar doppelt so groß, als in der ebenso behandelten Flasche 33. Dieses Verhältnis muß offenbar auf irgend einen Irrtum zurückzuführen sein, denn in keinem anderen Falle ergaben sich zwischen gleich behandelten Flaschen auch nur annähernd so große Differenzen. Worauf der Fehler beruht, vermag ich jedoch nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Wenn nur die Flaschen 33, 35 und 36 berücksichtigt werden dürften, so würde diese Versuchsreihe dartun, daß bei genügendem Luftzutritte die lösende Einwirkung einer Kohlensäure-Ammoniakgärung auf die im Tricalciumphosphat enthaltene Phosphorsäure deutlich zu Tage tritt.

Bei der chemischen Analyse wurde in folgender Weise vorgegangen¹⁾: Der Gesamtinhalt der Versuchsflasche wurde in eine Meßflasche von 500 oder 1000 ccm gespült, worauf Wasser bis zur Höhe der Marke aufgefüllt wurde. Nachdem die Flasche gut umgeschüttelt worden war, wurde durch trockenen Filter filtriert. Von dem Filtrate, welches, auch nach wiederholtem Filtrieren, in der Regel nicht ganz klar gewonnen werden konnte, wurden behufs Filtrierung 50 oder 100 ccm und zur Phosphorsäurebestimmung 200 oder 400 ccm abgemessen. In vielen Fällen war das Filtrat so dunkel gefärbt, daß kein Indikator gebraucht werden konnte, sondern der Neutralisationsmoment durch Träufeln der Lösung auf Lackmuspapier ermittelt werden mußte. In allen denjenigen Fällen jedoch, wo eine hochgradigere Acidität vorlag, brauchte die soeben erwähnte Methode nicht angewandt zu werden. Zur Bestimmung der Phosphorsäure wurde die organische Substanz in den Flaschen 1—18 durch Erhitzung und Eindampfung mit konzentrierter Salpetersäure zerstört. Nach Filtrierung, welche vorgenommen wurde, um einen etwa zurückgebliebenen Rest von organischer Substanz zu eliminieren, wurde die Lösung mit Ammoniumcitrat versetzt, sodann neutralisiert und abgekühlt, worauf die Phosphorsäure vermittelt Magnesiummischung gefällt wurde. Die Flaschen 19—36 wurden, behufs Zerstörung der organischen Substanz, mit Schwefelsäure und übermangansaurem Kali, im übrigen aber ebenso behandelt wie die vorerwähnten.

Zwischen der Einwirkung von sterilen und von gärenden organischen Stoffen auf die Löslichkeit der im Tricalciumphosphat enthaltenen Phosphorsäure haben sich bei den oben erwähnten Versuchen nur in einigen Fällen völlig deutliche Unterschiede ergeben. In anderen Fällen waren dagegen entweder gar keine oder

1) Die Analysen sind von Herrn Magister Allan Zilliacus ausgeführt worden. Für die Freundlichkeit, meiner diesbezüglichen Bitte nachzukommen, spreche ich Herrn Zilliacus hiermit meinen verbindlichsten Dank aus.

nur so geringe Differenzen nachweisbar, daß diese innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler liegen. Nichtsdestoweniger ist es durchaus unberechtigt, hieraus zu folgern, daß der lösende Einfluß organischer Stoffe auf die Phosphorsäure des Tricalciumphosphats nicht durch die Tätigkeit von Mikroorganismen bedingt werde. Bei genauerer Prüfung der Tabelle finden wir nämlich, daß eine deutliche Differenz sich ergeben hat, wenn außer sonstigen Stoffen Milchzucker in Anwendung gebracht worden, und eine Milch- oder Buttersäuregärung zu stande gekommen ist. Wenn dagegen nur Torf, Torfstreuung und Bouillon angewandt worden sind, und eine Kohlensäure-Ammoniakgärung stattgefunden hat, ist kein deutlicher Unterschied hervorgetreten. Daß in den Fällen, wo ein positives Ergebnis gewonnen wurde, der Milchzucker diejenige organische Substanz gewesen ist, welche, vermöge der Lebenstätigkeit der Bakterien, hauptsächlich zersetzt wurde, ist zwar sehr wahrscheinlich. Daß aber auch die übrigen organischen Stoffe zur Bildung der Zersetzungsprodukte und somit auch zur Lösung des Tricalciumphosphats beigetragen haben, darf wohl als sicher angesehen werden.

Die oben angeführten Versuche, welche demnach sowohl die Fähigkeit organischer Stoffe, auf Mineralien lösend einzuwirken, als auch die Abhängigkeit dieser Fähigkeit von der Tätigkeit mikroskopischer Lebewesen bestätigen, scheinen mir außerdem anzuzeigen:

1) Daß die Beschaffenheit der Gärung in wesentlichem Maße von der Natur der angewandten organischen Stoffe beeinflusst wird. So lassen Torf, Torfstreuung oder Bouillon eine Kohlensäure-Ammoniakgärung entstehen. Milch, saure Milch und Milchzucker erzeugen eine Milchsäure-, Torf nebst Milchzucker eine Buttersäuregärung.

2) Daß bei verschiedenartigen Gärungsprozessen die lösende Einwirkung auf Tricalciumphosphat in sehr verschiedenem Grade hervortritt. Während bei Kohlensäure-Ammoniakgärung diese Wirkung eine sehr geringe ist, macht sie sich bei der Milchsäure- und Buttersäuregärung sehr bemerkbar.

Daß auch in den sterilisierten Flaschen Tricalciumphosphat in Lösung übergegangen ist, beruht offenbar nicht auf einer Einwirkung seitens der organischen Stoffe, sondern auf der lösenden Einwirkung des Wassers. Sterile organische Stoffe sind also nicht im stande, auf Tricalciumphosphat lösend einzuwirken, sondern diese Fähigkeit ist an die Tätigkeit von Mikroorganismen gebunden.

Obwohl, wie aus der Tabelle hervorgeht, die Menge der gelösten Phosphorsäure in Flaschen, in denen eine Kohlensäure-Ammoniakgärung stattfindet, nicht größer ist als in sterilisierten Flaschen, habe ich dieser Gärungsart dennoch eine, wenngleich geringe, lösende Einwirkung auf Tricalciumphosphat zugeschrieben, und zwar aus folgenden Gründen: Bei höherer Temperatur übt das Wasser eine stärkere lösende Einwirkung aus, als bei niedrigerer. Wenn nun eine Kohlensäure-Ammoniakgärung auf Tricalciumphosphat nicht lösend einwirkte, so sollte, bei den betreffenden Ver-

Ordnungsnummer der Flasche	Dauer der Versuchs- zeit in Tagen	Angewandtes Versuchs- material	Behandlung des Versuchs- materials	Beschaffenheit der Umwandlungsprodukte
1	9	Die Flaschen 1—7 enthielten	nicht sterilisiert	Milchsäure
2	"	je 1 g Tricalciumphosphat,	"	"
3	"	2 g Milchzucker, 50 ccm	sterilisiert	—
4	"	abgerahmte Milch, 5 ccm	"	—
5	19	saurer Buttermilch und	nicht sterilisiert	Milchsäure
6	"	500 ccm Wasser	"	"
7	"		sterilisiert	—
8	18	Die Flaschen 8—11 enthielten	nicht sterilisiert	Kohlensäure u. Ammoniak
9	"	je 1 g Tricalciumphosphat,	"	"
11	"	25 g Torf, 25 ccm Bouillon,	sterilisiert	—
		20 g Torfstreuung und		
		500 ccm Wasser		
12	27	Die Flaschen 12—14 enthiel-	nicht sterilisiert	Kohlensäure u. Ammoniak
13	"	ten je 1 g Tricalciumphos-	"	"
14	"	phat, 20 g Torfstreuung,	sterilisiert	—
		25 ccm Bouillon und 500 ccm		
		Wasser		
15	23	Die Flaschen 15—22 enthielten	nicht sterilisiert	Kohlensäure u. Ammoniak
16	"	je 1 g Tricalciumphosphat,	"	"
17	"	25 g Torfstreuung und	sterilisiert	—
18	"	100 ccm Wasser	"	—
19	29		nicht sterilisiert	Kohlensäure u. Ammoniak
20	"		"	"
21	"		sterilisiert	—
22	"		"	—
24	37	Die Flaschen 24—27 enthiel-	nicht sterilisiert	Buttersäure
25	"	ten je 1 g Tricalciumphos-	"	"
26	"	phat, 25 g Torf, 2 g Milch-	sterilisiert	—
27	"	zucker und 500 ccm Wasser	"	—
29	39	Die Flaschen 29—32 enthiel-	nicht sterilisiert	Kohlensäure u. Ammoniak
30	"	ten je 3 g Tricalciumphos-	"	"
31	"	phat, 100 g Torf und 150 ccm	sterilisiert	—
32	"	Wasser	"	—
33	42	Die Flaschen 33—36 enthiel-	"	—
34	"	ten je 1 g Tricalciumphos-	"	—
35	"	phat, 50 g Torf, 10 g Torf-	nicht sterilisiert	Kohlensäure u. Ammoniak
36	"	streuung und 500 ccm	"	"
		Wasser	"	"

suchen, die Menge der Phosphorsäure in den sterilisierten Flaschen größer sein als in den nicht sterilisierten. Da dies jedoch nicht der Fall zu sein scheint, dürfte wohl die Annahme berechtigt sein, daß die Wirkung der Sterilisierung von der Wirkung der Kohlensäure-Ammoniakgärung aufgehoben wird. Zu Gunsten einer lösenden Einwirkung der Kohlensäure-Ammoniakgärung spricht vielleicht auch das, was ich oben hinsichtlich der die Flaschen 33 bis 36 umfassenden Versuchsreihe hervorgehoben habe. Außerdem sprechen ja hierfür alle die vielen Versuche, welche angestellt worden sind, um die lösende Einwirkung der Kohlensäure auf Mineralien, Berg- und Erdarten zu ermitteln.

Anzahl der Bakterienkolonien nach Schluß der Versuchszeit	Die Neutrali- sierung der gesamten Menge der betr.Substanz erforderte an $\frac{1}{10}$ normaler KOH-Lösung ccm	In Lösung überge- gangene Phosphor- säure g	Durch- schnittliche Menge der in Lösung überge- gangenen P_2O_5 g
} Bakterienkolonien so zahlreich, daß die Zählung nicht möglich war	182	0,405	
	197	0,418	0,4115
	0	0,065	
	15	0,062	0,0635
} Bakterienkolonien so zahlreich, daß die Zählung nicht möglich war	163	0,413	
	100	0,357	0,385
	0	0,074	0,074
	14	0,038	
2000	2	0,038	
450	2	0,046	0,042
0	2	0,044	0,044
220	6,5	0,085	
350	6	0,071	0,078
0	9	0,060	0,060
190	1	0,046	
20	1	0,081	0,0635
0	6	0,091	
0	6	0,049	0,070
360	15	0,064	
410	15	0,077	0,0705
0	25	0,061	
0	18	0,069	0,065
740	38	0,120	
520	63	0,125	0,1225
0	8	0,058	
0	6	0,043	0,0505
160	16	0,155	
220	16	0,161	0,158
0	16	0,147	
0	16	0,145	0,146
0	20	0,063	
0	20	0,127	0,095
150	10	0,099	
210	10	0,092	0,0955

Daß bei diesen Untersuchungen die Einwirkung der Kohlensäure-Ammoniakgärung auf Tricalciumphosphat sich als gering erwiesen hat, beruht übrigens in wesentlichem Maße darauf, daß das Tricalciumphosphat ein außerordentlich schwerlöslicher Körper ist. Ich bin daher überzeugt, daß, wenn anstatt dieser Substanz z. B. Tonerde zur Anwendung gekommen wäre, die lösende Einwirkung der Kohlensäure-Ammoniakgärung auf diese Substanz mit aller Deutlichkeit hätte nachgewiesen werden können. Unter solchen Verhältnissen liegt der Gedanke nahe, daß die bisher üblichen, rein chemischen Methoden für Erdanalysen vielleicht eine willkommene Vervollständigung dadurch erfahren könnten, daß man

sich neben ihnen auch solcher Methoden bediente, denen Lösungsmittel zu Grunde lägen, welche während des Fortganges der Untersuchung von den Bakterien erzeugt werden. Denkbar erscheint es wenigstens, daß diese Methoden im stande sein könnten, uns über die Mengen leichtlöslicher Mineralstoffe Auskunft zu erteilen, die in unseren Aeckern den Gewächsen zu Gebote stehen.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Stoffwechselprodukte des Bac. lact. aërogenes.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg.]

Von Dr. **Max Schroeder.**

Ueber die Abgrenzung des B. lact. aërogenes herrscht in der Literatur keine vollständige Uebereinstimmung. Die von Albarran und Hallé beschriebene „Bactérie pyogène“, die „Bactérie septique de la vessie“ Clados, der von Rovsing gezüchtete Coccobacillus ureae pyogenes, sie wurden alle von Morelle, einem Schüler von Denys, sowohl untereinander als auch mit dem B. lact. aërogenes Escherichs identifiziert. Sämtliche genannten Autoren erwähnen, daß ihre Bakterien beweglich seien. Der klassische L. aërogenes verfügt jedoch über diese Eigenschaft nicht. Wir dürfen also nicht so ohne weiteres annehmen, daß in allen Fällen der Lact. aërogenes vorlag. Es handelt sich höchst wahrscheinlich um andere Vertreter der großen Coli-Gruppe. Diese Ansicht hat auch schon früher Rath, Schüler von E. Levy, vertreten.

Die Stoffwechselprodukte des Lact. aërogenes sind von Denys untersucht worden. Da er aber denselben Standpunkt wie sein Schüler Morelle einnimmt, und auch aus seiner Arbeit nicht hervorgeht, ob er den klassischen Lact. aërogenes verwandt hat, so habe ich mich auf Anregung von Prof. Dr. E. Levy dieser Arbeit noch einmal unterzogen.

Es stand mir ein allen Anforderungen entsprechender Lactis-Stamm zur Verfügung. Die Prüfung erstreckte sich zunächst auf Milchgerinnungsversuche. Hierbei ließ ich durch Chloroform abgetöte, dann pulverisierte und getrocknete Lactis-Kulturen auf Milch, die mit 0,6 Proz. Karbolsäure versetzt war, bei 37° C einwirken. Der Eintritt der Gerinnung erfolgt unter diesen Umständen erst nach längerer Zeit, nach 3—5 Tagen. Zusatz von Calciumchlorid zur Milch befördert die Gerinnung nicht. Letztere bleibt jedoch aus bei Zusatz von gesättigter Ammoniumoxalatlösung. 20 Minuten lange Erhitzung auf 100° C verhindert den Eintritt der Koagulation nicht. Durch Chamberland-Kerzen filtrierte Lactis-Kulturen erzeugen in sehr großen Mengen gleichfalls Gerinnung. Das Ferment ist also der Hauptsache nach wohl intracellulärer Natur, geht jedoch in geringer Menge auch in die

umgebende Nährflüssigkeit über. Dagegen konnten Rohr-, Milch- und Traubenzucker vergärende Fermente in den vorsichtig abgetöteten Kulturen nicht nachgewiesen werden. Die Gärung wurde in unseren Versuchen nur durch lebenden *Lact. aërogenes* hervorgerufen.

Was die Frage nach den giftigen Stoffwechselprodukten anbelangt, auf die das Hauptgewicht gelegt wurde, so sind dieselben an die Bakterienleiber gebunden. Eine intraperitoneale Injektion von 5 ccm einer virulenten, durch den Chamberlandschen Apparat filtrierten Kultur wird von Meerschweinchen anstandslos ertragen, während diese Tiere schon nach intraperitonealer Injektion von 0,05 g der auf die oben angegebene Weise abgetöteten und pulverisierten Kultur ausnahmslos innerhalb 24 Stunden zu Grunde gehen. Diese Gabe ist als sichere letale minimale Dosis anzusehen. Es kommt durchschnittlich auf 100 g Meerschweinchengewicht ca. 0,012 g der abgetöteten Kultur. Diese giftigen Leibesbestandteile halten Siedehitze, sogar 20 Minuten lang im Autoklaven 120° C aus, ohne an Wirksamkeit zu verlieren. Diese Tatsache der Hitzebeständigkeit der Leibesbestandteile ist hygienisch nicht ohne Bedeutung.

Eine Vergiftung mit Fleisch durch *Lact. aërogenes*, der ja zu der Gruppe der Colibakterien gehört, ist nicht unmöglich. In solchem Falle würde selbst das Kochen des Fleisches die Schädlichkeit der Bakterienleiber nicht aufheben.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch.

Von Korpsstabsapotheker Utz, Würzburg.

(Schluß.)

Da die angegebenen Mikroorganismen in den meisten Kulturmerkmalen wie auch in den physiologischen Eigenschaften eine nahezu völlige Uebereinstimmung zeigen (sämtliche vorstehende Organismen bilden stets und ausschließlich Rechtsmilchsäure), so nehme ich an, daß es sich hier um den von Huepp'e beschriebenen Milchsäurebacillus, *Bacillus acidilactici*, handelt.

Würtz und Lendet (*Arch. de méd. experim. et d'anatomie pathologique*. Paris 1891. p. 487) kommen nach eingehenden vergleichenden Untersuchungen zu dem Schlusse, daß der *Bacillus lactis aërogenes* Escherich und der *Bacillus acidilactici* Hueppe identisch seien, eine Ansicht, die Escherich bereits früher (*Fortschr. d. Medizin*. 1885. No. 16 u. 17), trotz der Differenz in den beiderseitigen Angaben, namentlich hinsichtlich der Größenverhältnisse der beobachteten Organismen ausgesprochen hatte.

Wilde hält ebenfalls den gewöhnlichen Erreger der Milchsäuregärung zweifellos für identisch mit dem *Aërogenes* und em-

pfeiht, seine getrennte Bezeichnung als *Bacillus* oder *Bacterium acidilactici* fallen zu lassen.

Schon Günther und Thierfelder (Arch. f. Hyg. Bd. XXV. Heft 2. p. 164—195) hielten es für sehr wahrscheinlich, daß der von ihnen gefundene und beschriebene Organismus mit dem Listerschen *Bacterium lactis* und dem Hueppeschen *Bacillus acidilactici* identisch ist. Leichmann (Milchztg. 1894. No. 33, und 1896. No. 5) hat zwar bei dem freiwilligen Säuerungsprozeß der Milch stets und überall eine und dieselbe Bakterienart vorwiegend beteiligt gefunden, hält dieselbe aber für sehr verschieden von Hueppes *Bacillus* entgegen der Ansicht von Günther und Thierfelder, welche ihn mit dem von ihnen gefundenen für identisch ansehen; im übrigen hat auch Weigmann (Milchztg. 1896. No. 10 u. 11) letztere Angaben im wesentlichen bestätigt. Weigmann (Centralbl. f. Bakt. 1898. p. 603) hält die vorher beschriebenen, sowie die von ihm selbst gezüchteten Milchsäurebakterien auch mit dem von Freudenreich isolierten ovalen Coccus für identisch; er bemerkt auch, daß die Milchsäurebakterien bei fortgesetzter Züchtung in Milch die Neigung zeigen, dieselbe schleimig zu machen, eine Beobachtung, welche auch ich im Verlaufe meiner Versuche öfters zu machen Gelegenheit fand. Ueberhaupt habe ich die Wahrnehmung gemacht, daß es unbedingt erforderlich ist, bei derartigen Versuchen mit Kulturen zu arbeiten, die 1) möglich frisch und 2) nicht bereits öfters abgeimpft sind.

Lehmann und Neumann berichten über wiederholt im hygienischen Institut zu Würzburg ausgeführte Untersuchungen und kommen zu dem Ergebnisse, daß der *Bacillus acidilactici* Hueppe in spontan gesäuerter Milch niemals vermißt worden sei.

Clauss (a. a. O.) hält den von ihm aus Würzburger Marktmilch isolierten Organismus unzweifelhaft für das von Hueppe beschriebene oder wenigstens für ein der Aërogenes-Gruppe zugehöriges Bakterium.

Kozai dagegen möchte die von ihm, von Leichmann, von Günther und Thierfelder und von Weigmann beschriebenen, bei der Milchsäuregärung in hervorragendem Maße beteiligten und untereinander übereinstimmenden Bakterien von dem Hueppeschen *Bacillus acidilactici* abgrenzen und einer besonderen, selbständigen Art zuweisen.

Wenn man jedoch bedenkt, daß die Angaben Hueppes in den meisten Punkten mit denjenigen späterer Untersucher übereinstimmen, so geht man sicher nicht fehl, wenn man auch diesen Organismus mit den übrigen beschriebenen für identisch hält. Was die von Hueppe beobachtete Sporenbildung anbelangt, so hat sich dieselbe, wie bereits eingangs erwähnt, später als ebenso irrtümlich herausgestellt, wie die gleichzeitige Angabe von Endosporen der Typhusbacillen durch Gaffky.

Hier ist auch zu bemerken, daß bereits Denys und Martin (Cellule. T. IX. 1893. p. 261), ferner Wilde (Inaug.-Diss. Bonn.

Mikroorganismus II.

	Bacillus Claus	Bacillus Kozai	Bacillus des Verfassers
Form	Plumpe Stäbchen, die oft zu zweien oder viere aneinander liegen. Die Stäbchen haben Ähnlichkeit mit denen des Milchsäurebacillus, welche letztere jedoch etwas kleiner sind.	Plumpes Stäbchen ohne Eigenbewegung, das meist einzeln, selten nur zu zweien auftritt und niemals längere Ketten bildet. Sporen wurden nicht beobachtet.	3–4 μ lange, 0,5–1,3 μ breite, plumpe Stäbchen ohne Eigenbewegung, die entweder einzeln oder höchstens zu zweien nebeneinander liegen; längere Ketten wurden nicht beobachtet. Keine Bildung von Sporen.
Verhalten gegen Anilinfarbstoffe		Färbt sich ohne Schwierigkeiten mit den gebräuchlichen Farbstoffen und erweist sich auch der Behandlung nach der Gramschen Methode zugänglich.	Mit Methylenblau, Fuchsin, sowie nach Gram gut gefärbt.
Wachstum in Bouillon		In gewöhnlicher Bouillon sehr kräftiges Wachstum; innerhalb der ersten 24 Stunden starke Trübung, gleichzeitig sammelt sich ein flockiger, weißer Niederschlag an. Die chemische Reaktion wird nicht verändert.	Nach 1 Tage kräftige Trübung und gleichzeitig starkes Sediment. Reaktion unverändert.
Wachstum in zuckerhaltiger Bouillon	Keine Trübung; nach 24 Stunden setzen sich Flöckchen an den Wänden des Reagenzglases ab. Die Lösung reagiert sauer.	Kräftiges Wachstum; flockiger, weißer Niederschlag. Keine eigentliche Deckhaut, wohl aber entsteht an der Berührungsstelle mit der Wandung der Röhren häufig ein weißer ringförmiger Ansatz. Reaktion wird stark sauer und schäumt beim Schütteln infolge Gasbildung.	Wie bei gewöhnlicher Bouillon; nur kommt es hier auch zur Bildung eines Häutchens an der Oberfläche der Bouillon, und zwar bildet sich dieses von der Wandung des Reagenzglases aus.
Gelatinestrichkulturen		Am 2. Tage erscheint längs d. Impfstiches ein weißer, dünner Streifen, der sich ziemlich schnell weiter entwickelt. Der Rand des Rasens buchtet sich mit der Zeit aus. Verflüssigung tritt nicht ein.	Längs des Striches ein weißer, gelbkörniger Streifen, der sich rasch ausbreitet. Von den gebildeten Auflagerungen zweigen sich häufig Verästelungen ab. Die Gelatine verflüssigt sich nicht.

	Bacillus Clauss	Bacillus Kozai	Bacillus des Verfassers
Traubenzucker- agarstrichkul- turen		Innerhalb 24 Stunden längs d. Impfstriches ein weißer, lackartig glänzender Rasen, dessen Rand Ausbuchtungen zeigt. Im Kondensationswasser sammelt sich ein reichlicher, weißer Bodensatz an.	Wie bei Gelatinestrichkulturen.
Gelatineplatten	Die Kolonien zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit einem ausgebreiteten Fächer, diesen jedoch kreisrund gedacht. In der Mitte der Kolonie befindet sich ein Punkt, von dem aus Radien nach der Peripherie ausgehen, die aus zwei dicht aneinander gelegenen Kreisen besteht, deren Ring in kleine Felder geteilt ist, entsprechend je 2 vom Mittelpunkt kommenden Radien. Die einzelnen Kolonien entwickeln sich aus stecknadelkopfgroßen, gelben Pünktchen, die, an die Oberfläche gelangt, sich bis zur Linsengröße ausbreiten, blaßweiß und durchsichtig sind.	Schon nach 24 Stunden feine, weiße Pünktchen, die rasch an Größe zunehmen; die Oberflächenkolonien erreichen nach 5 Tagen einen Durchmesser von 3—4 mm. Rundliche, weiße, im Zentrum etwas erhöhte Scheiben. Allmählich lagert sich um den dichten Kern eine Anzahl konzentrisch geschichteter Zonen, zugleich aber ziehen von der Mitte nach den Randteilen strahlige Ausläufer, die wie die Speichen eines Rades erscheinen. Der Saum ist regelmäßig gelappt. Auf Milchzuckergelatineplatten rasches Wachstum; die Säurefelder sind schmal. Mit der Zeit tritt infolge Gasbildung Zerklüftung sowohl der Kolonien als auch der Gelatine ein.	Auf Milchzuckergelatineplatten mit Calciumkarbonat sehr kräftiges Wachstum, namentlich an der Oberfläche; die tiefer liegenden Kolonien zeigen ein spärliches u. langsames Wachstum. Die Säurefelder sind schmaler wie beim Organismus I; infolge Gasbildung tritt Zerklüftung der Gelatine ein. Schon nach 24 Stdn. feine, weiße Pünktchen, welche noch an Größe zunehmen. Im Zentrum sind die Kolonien etwas erhöht; um dasselbe lagern sich konzentrische Zonen, die durch radienförmige Ausläufer miteinander verbunden sind. Die Kolonien gleichen zwei aneinander gelegten Fächern. Später färben sich die anfangs weißen Auflagerungen gelblich.
Traubenzucker- agarplatten	Auf Agar ist das Wachstum genau so wie auf Gelatine.	Innerhalb 24 Stunden ziemlich große Kolonien, die am 3. Tage Auflagerungen von 4—5 mm Durchmesser darstellen. Nach und nach tritt die bei den Gelatineplatten erwähnte charakteristische Schichtung etc. ein. Bei Zusatz von CaCO_3 ist das Verhalten das gleiche wie ohne diesen Zusatz. Die Säurediffusionsfelder sind noch undeutlicher wie auf Gelatine; Gasbildung tritt auch hier ein.	Auf Milchzuckergelatineplatten scheint das Wachstum ein besseres zu sein wie auf Agarplatten; die Kolonien wurden auf Traubenzuckeragar nie so groß wie auf Milchzuckergelatine. Die Säurediffusionsfelder fehlen auf der Oberfläche vollständig; wo sie sich in der Tiefe zeigen, sind sie sehr schmal und meistens kaum wahrnehmbar. Gasbildung konnte auch hier beobachtet werden.

	Bacillus Clauss	Bacillus Kozai	Bacillus des Verfassers
Kartoffelkulturen	Wächst als 10-pfennigstückgroßer gelber Belag, der späterhin bräunlich wird, wenn man die Kultur der Brützwärme aussetzt.	Sehr üppiges Wachstum; nach 24 Stunden entsteht bei Brüttemperatur ein dicker, hellgrauer Belag, dessen Rand sich nach und nach ausbuchtet.	Sehr rasches u. starkes Wachstum; es entsteht ein dicker, grobkörniger, grauer oder auch gelblicher, später hellbrauner Belag mit ausgebuchtetem Rande.
Milchkulturen	Macht Milch gelatinös gerinnen. Die geronnene Masse bildet eine solide Säule, die unverändert bleibt, und aus der sich kein Serum abscheidet.	Bei Brüttemperatur nach 3—4 Tagen Gerinnung, bei Zimmerwärme erst nach 12 Tagen Beginn derselben. Lockeres, von Rissen und Spalten durchsetztes Gerinnsel, das nicht unbedeutliche Mengen von Säuren abscheidet.	Im Brütschrank meistens nach 17—20 Stunden gleichmäßig mit Serum durchsetztes, festes Koagulum, in dem sich wenige Risse und Spalten vorfinden.
Kulturen bei Abschluß von Sauerstoff		Gleiches Wachstum wie bei Zutritt des Sauerstoffes, nur scheint die Größe in der Regel etwas hinter der unter normalen Verhältnissen meist erreichten zurückzubleiben.	Ebensogutes Wachstum wie bei Zutritt des Sauerstoffes.

1896) nachgewiesen haben, daß bei dem *B. aërogenes* und den ihm nahestehenden Bakterienformen sowohl die angegebenen Kulturmerkmale wie die physiologischen Eigenschaften in hohem Grade veränderlich und somit zum Zweck der Differenzialdiagnose nur mit Vorsicht zu verwenden seien.

Die meisten Mikroorganismen, welche Linksmilchsäure bilden, sind bekanntlich nicht in der Milch, sondern auf anderen Substraten gefunden worden, unterscheiden sich auch in ihren Eigenschaften derartig von den drei vorher beschriebenen, daß sie von vornherein ausscheiden. Nur der von Schardinger erwähnte *Bacillus acidi laevolactici* weist — allerdings neben wesentlichen Unterschieden — so viele Ähnlichkeiten mit denselben auf, daß sich bei weiteren Untersuchungen und Vergleichen wohl deren Identität herzustellen dürfte. Der von Leichmann isolierte *Bacillus lactis acidi* ist von den beschriebenen Arten vollständig verschieden. Kozai hält sich für berechtigt, zu sagen, daß das Vorkommen dieser Bakterienform in der Milch zum ersten Male durch seine Untersuchungen festgestellt worden ist. Das ist unrichtig. Da ich den von Kozai isolierten Organismus mit dem bereits im Jahre 1888 von Clauss aus Würzburger Marktmilch und somit auch mit dem von mir aus der gleichen Milch gezüchteten *Bacillus* für identisch halte, kommt Clauss die Priorität der Konsta-

tierung des genannten Linksmilchsäure bildenden Bacillus in der Milch zu.

Migula hat den von Clauss isolierten Mikroorganismus, dem letzterer die Bezeichnung Fächerbacillus gegeben hat, unter diesem Namen in seinem Werke (System der Bakterien) aufgeführt und beschrieben. Ich möchte dagegen vorschlagen, die von Schardinger gewählte Bezeichnung beizubehalten und den Bacillus II dadurch vom Organismus I zu unterscheiden, daß man ihn „Bacillus acidilaevolactici“ nennt.

Leichmann (Centralbl. f. Bakteriologie. 1899, S. 388) will in den verschiedenen Schichten der Milch die einzelnen Organismen getrennt aufgefunden haben und bemerkt hierzu, daß der Aërogenes, wenn er überhaupt in säuernder Milch zur Entwicklung gelangt, besonders in den oberflächlichen Schichten derselben günstige Bedingungen zu einer reichlichen Vermehrung findet. In jeder freiwillig säuernden Milch ist das Bacterium lactis acidii in großer Menge nachweisbar und vermehrt sich vom Beginn des Säuerungsprozesses an so rasch und üppig, daß nach eingetretener Gerinnung der Milch in einer Durchschnittsprobe des Koagulums eben diese Form weit aus überwiegend vor anderen etwa sonst noch vorhandenen gefunden wird. Allein in den oberflächlichen Schichten der säuernden Milch vermag diese Spezies, indem sie durch reichlichen Luftzutritt in ihrem Wachstum behindert wird, sich nicht immer üppig zu vermehren, so daß hier oft andere Organismen in den Vordergrund treten. Unter diesen in der Rahmschicht säuernder Milch üppig gedeihenden Arten findet man besonders häufig und zahlreich den Aërogenes, doch nicht regelmäßig in jeder Milch; an seiner Stelle können gelegentlich obligat aërobe, die Milch nicht säuernde Formen sich überaus reichlich vermehren und die Oberhand gewinnen.

Ich habe bei meinen zahlreichen Versuchen auch diese Angaben einer Nachprüfung unterzogen, konnte aber in den einzelnen Schichten der Milch keine Unterschiede in der Art oder Zahl der einzelnen Organismen finden, was ja auch nach den Kulturversuchen nicht anders zu erwarten war.

Ob die Art der bei der spontanen Gerinnung der Milch gebildeten Milchsäure, ferner das Vorkommen der einzelnen hierbei beteiligten Mikroorganismen abhängig ist von den verschiedenen Jahreszeiten oder auch von der Lage einzelner Orte, bedarf erst noch weiterer gleichzeitig an verschiedenen Orten ausgeführter Untersuchungen. Leichmann (Milchztg. 1894, No. 33) behauptet allerdings, daß geographische Verschiedenheiten hinsichtlich der Erreger der spontanen Gerinnung der Milch, wie mehrfach behauptet worden, nicht beständen, doch sind diese Angaben bis heute noch nicht bewiesen.

Ferner ist es nach Leichmann nicht undenkbar, daß bei veränderter Haltung und Fütterung des Milchviehes ein anderer häufig vorkommender Mikroorganismus zahlreich und regelmäßig in die Milch gelangt und sich vorwiegend an der spontanen Säuerung beteiligt.

Schlußfolgerungen.

1. Die in spontan geronnener Milch gebildete Säure ist entweder reine Rechtsmilchsäure, oder inaktive Säure, oder ein Gemisch dieser beiden Formen (in Uebereinstimmung mit Kozai).
2. Die Natur der bei der spontanen Gerinnung der Milch gebildeten Milchsäure wechselt je nach Zeit und Ort, ohne daß man über die Gründe dieser Erscheinung zur Zeit eine befriedigende Erklärung abzugeben vermöchte (mit Günther und Thierfelder).
3. Die Temperatur, bei der sich die Gärung vollzieht, beeinflußt zwar die Dauer der Gerinnung, ist jedoch ohne entscheidende Einwirkung auf die Art der gebildeten Milchsäure (in Uebereinstimmung mit Günther und Thierfelder).
4. Als Erreger der spontanen Gerinnung der Milch kommen vorwiegend das *Bacterium acidilactici*, welches Rechtsmilchsäure, und der *Bacillus acidilaevo lactici*, welcher Linksmilchsäure bildet, in Betracht; von diesen Organismen tritt der erstere am häufigsten auf.
5. Der von mir isolierte, Rechtsmilchsäure bildende Organismus ist mit dem von Hueppe, Günther und Thierfelder, Leichmann, Clauss und Kozai beschriebenen identisch, der Linksmilchsäure bildende mit dem *Bacillus Clauss und Kozai*, ferner sehr wahrscheinlich mit dem von Schardinger beschriebenen *Bacillus acidilaevo lactici*.

Nachdruck verboten.

A Preliminary Note on the Associative Action of Bacteria in the Souring of Milk.

By Prof. Dr. Charles E. Marshall,
Agric. College, Michigan, U. S. A.

While aiming specifically to secure further information concerning the "Aëration of Milk", I isolated two species of microorganisms from the milk of our college dairy that should be as diametrically opposed to each other as possible; one was a member of the group of lactic acid bacteria and the other belonged to the peptonizing class, constantly found in our college dairy milk and producing no acidity. Frequently I have brought two different species together in milk culture and have found an alteration in results which would be secured by either, but up to this time had not thought it worth the effort to combine a species of lactic acid bacteria with one of a class so different. It is not my purpose at this time to go into a detailed study of these two species of bacteria from a cultural and biological standpoint, but rather to state as concisely as possible some of the conclusive experimental evidence which I have accumulated thus far. I hope to prosecute this work with vigor until I shall be able to give some idea of its extent and the practical bearing it may have.

The associative action is apparently indifferently understood in

47*

the fields of milk fermentation, and pathogenic bacteriology, although it has been known for a long time that bacterial association is of variable and frequently of great importance in the application of bacteriologic knowledge. A pure culture may tell, if conditions are maintained, of the individual and isolated action of a bacterium, but by no means tells its action when brought into the influential company of another species of bacteria, especially if both are cultivated together in their natural environment. Analysis and synthesis should go together hand in hand, otherwise our conclusions might be like studying man apart from society in order to obtain his social relations.

The customary conception regarding lactic acid fermentation in milk is simple and has been so long established that modifications have not gained way. What we have to offer does not in any manner alter the understanding of the simple nature of fermentation of lactic acid under pure culture, but it has its bearing by its qualification of lactic acid fermentation in its application where other bacteria are involved. We have always assumed that the lactic acid bacteria would remain uninfluenced by other bacteria in milk or at most would only be retarded in a struggle and would gradually make their way by killing off or inhibiting the growth of other bacteria to the extent of their capacity to produce lactic acid from lactose. With this working hypothesis, bacteriologists have made much advance, but have been unable to explain many phenomena attending lactic acid fermentation in milk other than to attribute them to possible deviations, variations, alterations, exaltations of virulence, due to the disturbances of the life per se of the lactic acid bacteria.

Let us designate our cultures as follows for the sake of brevity:

A = Lactic acid bacterium in litmus milk culture. When used as a starter in the dairy it was pronounced by Mr. Michels, the college Dairyman, as excellent.

B = Peptonizing bacterium, eventually producing slimy milk.

A + B = Equal amounts of a 24 hrs. bouillon cultures of A and B in the same amount of litmus milk employed in each culture A and B, 100 ccm in each instance.

There is no test applied which will yield more convincing proof than to watch the cultures closely over a period of several days, for in them may be read the entire history, although not furnishing any intimate knowledge of the changes.

Making cultures with definite amounts of cultural material used for inoculation into definite amounts of litmus milk, and placing these flasks at constant temperatures, the results ought to be very apparent, if carefully observed. If it is found later that more specific data are necessary for demonstration, we shall add the details in anticipated future articles on this subject.

The history of two gross test cultural experiments will perhaps be sufficient to illustrate what I have already found to run very uniformly in a dozen or more trials.

The cultures used were made by inoculating 100 ccm litmus milk in Erlenmeyer flasks of 250 ccm capacity with very dilute cultures of A and B, made by diluting $\frac{1}{2}$ ccm of bouillon culture in 100 ccm of physiologic salt solution and using definite quantities of this for inoculating. A + B received of A the same amount as culture A, and of B the same as culture B, that is,

A = $\frac{1}{2}$ ccm of diluted bouillon culture A, 24 hrs. old, in 100 ccm litmus milk.

A = $\frac{1}{2}$ ccm of diluted bouillon culture B, 24 hrs. old, in 100 ccm litmus milk.

A + B = $\frac{1}{2}$ ccm of diluted bouillon culture A, 24 hrs. old + $\frac{1}{2}$ ccm of diluted bouillon culture B, 24 hrs. old, in 100 ccm litmus milk.

The gross changes in the milk may be indicated by the following scheme, temperature 20–22 ° C throughout.

20 hours after inoculation.

A = No change other than very slight reddening of litmus.

B = No change apparent in the milk.

A + B = Litmus redder than in A but not so very marked.
No change in milk.

44 hours after inoculation.

A = Litmus red. No other change in milk apparent.

B = No apparent change in the milk.

A + B = Litmus reduced except very thin red stratum on surface.
Firm curd.

68 hours after inoculation.

A = Litmus red throughout, no other change in milk apparent.

B = Very slight peptonization on immediate surface but otherwise unchanged to eye.

A + B = Firm curd with whey separated. Litmus reduced except on immediate surface where it is red.

92 hours after inoculation.

A = Litmus red throughout. No other change perceptible.

B = Milk peptonizing rapidly. Litmus is reduced in spots.

A + B = Firm curd with whey separated as in 68 hours. Litmus has become red throughout, probably through checked growth of micro-organisms and the permeation of curd by oxygen.

116 hours after inoculation.

A = Litmus red in upper half, lower half reduced. Milk is beginning to lopper.

B = Almost completely peptonized. Litmus reduced except in spots on surface where it is still blue.

A + B = Same as at 92 hours.

141 hours after inoculation.

A = Curd separated from whey. Litmus reduced throughout except layer on surface.

B = Milk peptonized and slimy. Litmus blue on surface.

A + B = Same as at 92 hours.

If the loppering of the milk be any criterion to the change taking place in A and in A + B, then there must be a difference of seventy-two hours, for A + B first manifested signs of loppering at 44 hours after inoculation and A did not begin to lopper till the 116th hour after inoculation. By following the changes as recorded above, the differences are plainly evident.

In the second series, the temperature varied between 23° and 24° C, two to three degrees higher than the preceding test. I am satisfied even at this writing that I am going to find material modifications with the changing of temperatures, but as yet I am not ready to report on the temperature studies with these two micro-organisms.

The second series:

23 hours after inoculation.

A = Litmus slightly reduced at the bottom, otherwise red. No change in the milk.

B = Litmus blue and unchanged.

A + B = Litmus completely reduced but becoming red on shaking a little. The milk is unchanged in appearance.

47 hours after inoculation.

A = Litmus reduced at bottom, red above. Milk unchanged.

B = Litmus blue and milk unchanged.

A + B = Litmus wholly reduced excepting a very thin stratum on surface. Milk has formed into a solid curd.

72 hours after inoculation.

A = Litmus red throughout. No apparent change in milk.

B = Litmus blue. Milk peptonizing slightly on immediate surface.

A + B = Litmus red throughout. Milk solid curd and whey separated.

95 hours after inoculation.

A = Litmus reduced at bottom, red above, and milk beginning to lopper.

B = Litmus partly reduced. Milk is peptonizing rapidly.

A + B = Same as at 72 hours.

The difference in time of loppering of A and A + B, fifty-eight hours, is not so great in this test, however in a dozen or more trials, identical in every particular, I have not found any passing these limits. It is fair to conclude that so far as the naked eye can note changes in litmus milk and milk without litmus, there must be differences in the cultures A and A + B and that A + B loppers much more rapidly than A. Further when this is carried on in the same manner with milk taken from a cow by milking into a narrow mouthed sterilized flask and not sterilizing the milk at all, but simply making our inoculations as in previous cases, the results are in main the same, especially so

far as loppering of A and A + B are concerned. I suspect, moreover, that bacteria present in such milk exert a marked influence, for I find that the courses run by the cultures A, B and A + B are in some details different in character. This is another open and suggestive field, however, to be pursued at our first opportunity.

So constant and uniform have been the above results that after many trials I feel satisfied. Others whom I have incited to try have also met with like conclusions.

In the study of the acidity of the same cultures, we find that B remains about the same for some hours after inoculation, but after standing several days becomes strongly alkaline, passing in the alkaline direction from the neutral point about as many degrees as A passes in the acid direction. Further than this, culture B need not be taken into account. The development of acid in cultures A and A + B may be advantageously added.

	Culture A	Culture A + B
0 hrs. after inoculation	18°	18°
24 " " "	18°	20°
44 " " "	28°	64° loppered
68 " " "	40°	74°
92 " " "	48°	84°
116 " " "	52° loppering	93°
142 " " "	56°	108°

The acidities in the above records verify the previous gross observations. It appears characteristic of A + B to make a very rapid rise in acidity immediately after twenty-four hours, while A progresses slowly and steadily. Another trial of acidity is added by way of confirmation, although all run very uniformly, much as in the above record.

	Culture A	Culture A + B
0 hrs. after inoculation	18°	18°
23 " " "	24°	32°
49 " " "	38°	56° loppering
72 " " "	48°	70°
96 " " "	56° loppering	84°
121 " " "	62°	95°

The more rapid development of acid in A + B indicates the same results obtained from the gross tests and also points to a more rapid souring of milk in the combined culture.

The next natural question is, do the lactic acid bacteria increase more rapidly in the combined culture A + B than in A? Many counts of bacteria have been made in these cultures at different hours during the progress of the changes going on, and they all plainly show a more rapid increase of lactic acid bacteria in the combined A + B culture than they do in culture A. At the time of loppering when the members show their greatest contrast, we find A : A + B = 27 : 1614. Again in another exhaustive count the proportion stands thus A : A + B = 271 : 1537. These counts again bear out what has been stated heretofore.

It is also very noticeable that germs of culture B, as they develop in the combined culture A + B, die out completely but

gradually before the 50 " hour. In the first hours they predominate but soon lose their ascendancy, leaving however a distinct influence in their wake and also a perceptible odor peculiar to this culture.

If this associative action is borne out with other similar micro-organisms when grown in the presence of lactic acid bacteria, the significance is great, for it will have a direct and practical application to dairy operations, in the matter of pure milk supply, souring of milk, starters and their management. Before further discussion, I am desirous of ascertaining how far reaching this may be and this can be accomplished by extensive experiments only. The conditions must now be greatly varied and the various germs usually met with in the dairy must be tested in this associative function before conclusions should be drawn for guidance.

Upon going to press the author is able to state that he has met in milk other germs which hasten the souring of milk caused by the lactic acid bacterium, and also that he has met with a species capable of retarding the curding by the lactic acid bacterium. Details will be furnished as the work progresses.

Nachdruck verboten.

Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. Ed. v. Freudenreich „Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobearten bei Hartkäsen.

[Aus dem Hygiene-Institut der K. Universität Rom.]

Von Dr. med. A. Rodella.

In Bd. XI. No. 10/11 dieser Zeitschrift veröffentlicht Dr. Freudenreich die größtenteils negativen Ergebnisse seiner Untersuchungen auf Anaëroben bei Emmenthalerkäse und stellt dieselben meinen diesbezüglichen positiven Befunden gegenüber.

Die negativen Resultate Freudenreichs sind für mich um so wertvoller, da dieselben den indirekten Beweis liefern für die Richtigkeit des von mir aus meinen Untersuchungen gewonnenen Schlusses.

Die Hauptresultate meiner bisherigen Untersuchungen dürften kurz folgendermaßen zusammengefaßt werden:

I. Es gelingt regelmäßig, in Quantitäten unter 0,5 g bei Hartkäsen anaërobe Buttersäurebazillen nachzuweisen.

II. Werden diese Käsesorten in Quantitäten unter 0,5 g mit 5—6 ccm sterilem Wasser aufgeschwemmt, tut man die Aufschwemmung, unter strenger Anaërobiose, in Grubersche Röhren¹⁾ hinein,

1) Wir schlagen hier anstatt Buchnersche Grubersche Röhren vor, da bei letzteren eine Fehlerquelle vermieden werden kann.

welche auf 125° 1/2 Std. lang gekochtes Eiereiweiß enthalten, so entwickeln sich regelmäßig Fäulnisanaeroben. Diese Fäulnisanaeroben gehören größtenteils zu der von Achalmé mit der gemeinschaftlichen Benennung „*Bacilles anaérobies tryptobutyriques*“ bezeichneten Gruppe. (Einige Glieder dieser Gruppe wurden andererseits von Schattenfroh und Grassberger mit dem einfacheren Namen „anaerobe Buttersäurebacillen“ genannt.)

Mit vollem Rechte sagt v. Freudenreich: „Wollte man an einer Beteiligung streng anaerober Bakterien am Reifungsprozeß festhalten, so wäre eher an solche zu denken, die durch an Käse erinnernde Gerüche sich auszeichnen u. s. w.“

Von der Richtigkeit dieser Gedanken war ich schon längst überzeugt, und ist es mir in der Tat gelungen, dank der sub II angegebenen Methode, regelmäßig die Fäulnisanaeroben auch in Emmenthalerkäse nachzuweisen.

Das habe ich aber schon in Bd. X. No. 24/25 dieser Zeitschrift mitgeteilt.

Nun kommt aber Freudenreich mit folgendem Satze:

„Auch hat Rodella seine Emulsionen ganz streng anaerob gehalten, was begünstigend auf den Anreicherungsprozeß wirken mußte; ich habe es indessen nicht getan, weil ich aus früheren Erfahrungen wußte, daß auch in den nicht streng anaerob gehaltenen Emulsionen die Anaeroben sich ganz gut entwickeln können, besonders wenn sich, was meist der Fall ist, auch *Tyrothrix*sporen darin befinden; diese entwickeln sich nämlich rasch und machen, wie dieses für die Heubacillen nachgewiesen worden ist, die Emulsion zu einem günstigen Nährmedium für die Anaeroben.“

Die Tatsache aber, daß bei Luftzutritt sich sehr selten in der Käseemulsion Anaeroben entwickelten, welche dagegen bei strenger Anaerobiose immer nachzuweisen sind, spricht allerdings nicht zu Gunsten „der früheren Erfahrungen von Freudenreichs“.

Wenn also Freudenreich Anaeroben finden will, so muß er in Zukunft sich der Anaerobiose bedienen.

Auf alle Einzelheiten des Aufsatzes v. Freudenreichs will ich nicht näher eingehen, da dieselben in unseren Mitteilungen Berücksichtigung gefunden haben.

Nur die Vorstellung, die sich v. Freudenreich und seine Schule von der Käsereifung macht, dürfte hier einer kleinen Kritik unterzogen werden. Freudenreich sagt:

„Bei einer Gärung, wie es der Reifungsprozeß des Käses ist, darf man wohl erwarten, daß die Gärungserreger nicht vereinzelt vorkommen, sondern in genügender Zahl, um für die Gärungserscheinungen verantwortlich gemacht werden zu dürfen. Nun aber gelingt es Dr. Rodella nur dadurch, strenge Anaeroben in Käse nachzuweisen, daß er zunächst ein sogenanntes Anreicherungsverfahren verwendet.“ Und dann: „Solche Anreicherungsverfahren sind indessen nur da am Platze, wo es sich darum handelt, aus einem Bakteriengemische einzelne bestimmte, vielleicht nur in spärlicher

Anzahl vorhandene Bakterienarten herauszuzüchten. Dieses ist aber, wie bereits erwähnt, bei einem Gärungsvorgange nicht der Fall“.

Daß die Käsereifung das Resultat von Gärungen sei, daran zweifle ich gar nicht.

Daß aber dieselbe nur das Produkt einer einzigen Gärung ist, das hat, meines Wissens, weder v. Freudenreich noch irgend Jemand nachgewiesen.

Wenn aber, was das Wahrscheinlichste ist, verschiedene Gärungsprozesse während der Reifung sich abwickeln, dann ist es auch wahrscheinlich, daß die Gärungserreger verschiedene seien. Dieselben werden je nach dem Stadium der Reifung zahlreicher oder spärlicher vertreten sein.

Es handelt sich also auch hier darum, aus einem Gemische von Gärungserregern einige derselben herauszuzüchten, welche an unsere bakteriologische Technik besondere Anforderungen stellen.

Um über die Bedeutung der Anaëroben bei der Käsereifung klar zu werden, schien es mir nötig, vor allem über die Anwesenheit derselben in frischer Milch und in dem aus frischer Milch durch Lab gefällten Parakasein etwas besser orientiert zu sein.

Bekanntlich sind auch hier die Anaëroben, wie es v. Freudenreich für den Käse behauptet, nur als zufällige und seltene Bewohner betrachtet worden.

Unsere Untersuchungen werden bald in dieser Zeitschrift in extenso mitgeteilt werden. Vorläufig kann ich aber sagen, daß auch in kleinen Mengen von frisch gefälltem Parakasein regelmäßig Anaëroben sich befinden.

Da alle günstigen Bedingungen für die Entwicklung dieser Anaëroben vorhanden sind, so sehen wir nicht ein, warum dieselben sich immer in Sporenzustande befinden sollen, wie es v. Freudenreich meint.

Ferner sagt v. Freudenreich: „In der gleichen Menge Käse (0,5 g) findet man dagegen Millionen von Milchsäurefermenten, es ist daher kaum anzunehmen, daß eine so geringe Zahl anaërober Bakterien auf den Reifungsprozeß irgend einen entscheidenden Einfluß haben könnte“. Die Ansicht aber, daß die Wirkung der Bakterien nur von der Zahl derselben abhängig sei, ist grundsätzlich falsch.

Millionen und Millionen von Milchsäurefermenten (Herr v. Freudenreich wird mir diese harmlose Kritik nicht übelnehmen) haben für die Peptonisierung des Kaseins nicht die gleiche Wirkung, wie Hunderte von Fäulnisanaërobiern allein.

Millionen von Milchsäurefermenten haben an der Geruchs- und Geschmacksbildung nicht den Anteil, wie wenige der genannten Anaëroben. Sollten aber diese letzteren im Käse millionenweise, wie das v. Freudenreich verlangt, auftreten, so würde vom Käsestoff gar nichts mehr übrig bleiben, da derselbe in eine übelriechende Flüssigkeit verwandelt würde.

In Band XLI der Zeitschrift für Hygiene Seite 484 1902 schrieb ich zum Schlusse meiner Untersuchungen über Darmanaëroben, folgenden Satz:

„Die Krankheitserreger bei Darmkrankheiten dürfen wir also heutzutage nicht mehr ausschließlich in der Coligruppe und unter den aërob wachsenden Organismen suchen.“

Die Mitteilung v. Freudenreichs über 50 wegen Genusses von Käse an heftigem Erbrechen und Diarrhöe erkrankte Personen hat uns aber nicht einen großen Eindruck gemacht.

Diesmal begreife ich eigentlich nicht, was die von Freudenreich erzählte Geschichte an und für sich, wie auch die von diesem Autor ins Feld gezogene Tatsache, „daß Katzen und Hunde manches vertragen, was dem menschlichen Magen nicht zuträglich ist“, mit dem Reifungsprozesse der Käse zu tun hat.

Vorläufig dürften wir uns mit dem Studium dieser Frage nur vom technisch-bakteriologischen Standpunkte aus begnügen. Will man dieses Studium mit Erfolg unternehmen, so muß man auch die Technik der Anaërobiose beherrschen.

Vor allem darf man folgendes Prinzip, welches für die meisten Anaëroben gilt und für die Buttersäurebacillen von Schattenfroh und Grassberger mit trefflichen Worten zum Ausdruck gebracht wurde, nicht vergessen: „Der schädliche Einfluß der Gegenwart von rasch wachsenden, fakultativ anaëroben Bakterien in Milchkulturen, welcher auch bei Verwendung von Ausgangsmaterial (flüssige Nährböden) das scheinbar überwiegend die Stäbchen des beweglichen Buttersäurebacillus enthält, zur Geltung kommt, macht sich auch hier (Zuckeragar) in hohem Grade bemerkbar, eine Erfahrung, die von Wichtigkeit für die Beurteilung des Mengenverhältnisses verschiedener Arten von Gärungserregern in flüssigen Medien ist. Es mag hier hervorgehoben werden, daß in vielen Fällen eine Isolierung des beweglichen Buttersäurebacillus aus flüssigem Material, das er in dem betreffenden Falle gärend beherrscht, durch das einfache Plattenverfahren ausgeschlossen ist. Damit soll ein Punkt von wesentlicher Bedeutung berührt werden: strengste Anaërobiose, Wahl eines sonst günstigen Substrates (Zuckeragar) vermögen nicht die Nachteile aufzuwiegen, welche der feste Nährboden dem Anwachsen mancher Rassen der Buttersäurebacillen in Mischkultur entgegengesetzt, ja, man glaube nicht im festen Nährboden durch Beimischung aërober Bakterien etwa ähnliche Wachstumsbedingungen herbeizuführen, wie dies in flüssigen Medien der Fall ist“.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Organismus der *Bombyx mori* (L.) und der *Periplaneta orientalis* (L.) bei artifizieller Infektion derselben.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von Frau E. D. Filatoff.

Mit 3 Kurven.

(Schluß.)

Aus diesem Auszuge sieht man, daß im Jahre 1892 Kowalewski der Ansicht war, daß eine phagocytäre Eigenschaft nur den Leukocyten zukomme, während die Perikardialzellen nichts anderes wären als ein Bestandteil des Sekretionssystems. Im Jahre 1894 ist, wie aus seinen oben erörterten Arbeiten: „Studien über das Lymphsystem etc.“ und „Etudes expérimentales etc.“ zu ersehen ist, diese Ansicht zu einer geradezu entgegengesetzten geworden. Auf Grund von Bakterieninjektionen kam er zu der Ueberzeugung, daß bloß das perikardiale Gewebe phagocytäre Eigenschaft besitze, während die Leukocyten gar nicht an der Phagocytose beteiligt seien.

Metschnikoff spricht in seiner Arbeit: „Ueber die Sekretionsorgane einiger Insekten“ (44) die Ansicht aus, daß bei *Aeschna* die Phagocytose durch besondere Organe, welche paarweise an jeder von den Oeffnungen auf dem hinteren Herzende gelegen sind, also ebenfalls mit Hilfe des perikardialen Gewebes, versehen werde.

Nach den Beobachtungen von Rotwand: „Ueber Phagocytose und Perikardialzellen der Libellenlarven“ (45) geschieht die Phagocytose bei den Libellenlarven mit Hilfe der Leukocyten. Besondere phagocytäre Organe gibt es nicht. Die Perikardialzellen haben nicht den geringsten Anteil an der Phagocytose.

Kulwetz schildert in seiner Arbeit: „Ein Beitrag zur Struktur des Brustteiles des Blutkreislauf- und Lymphsystems der *Periplaneta orientalis*“ (46) Injektionsversuche mit diversen pulverförmigen Substanzen, vornehmlich mit Tusche und Karmin, an Küchenschaben. Der Brustteil des Herzens besteht bei den Schaben aus 3 Kammern; jede Kammer besitzt zur Pulsation ein Paar flügelartige Muskeln. An der Unterseite des Dorsalgefäßes befindet sich ein Netz aus feinen bindegewebigen Strängen, welche von den Muskeln ausgehen. Zwischen diesen sind die Perikardialzellen eingestreut. Letztere sind große Gebilde mit 2 oder mehreren Kernen; sie verzehren gierig verschieden injizierte flüssige Substanzen, verarbeiten sie und speichern die Produkte als feste Brocken in sich auf.

Bei Injektionen mit festen pulverförmigen Substanzen, wie z. B. Tusche und Karmin, fand Kulwetz, daß diese Substanzen sich in besonderen, an den Seiten des Dorsalgefäßes gelegenen

Gebilden ansammeln. Bei aufmerksamerer Untersuchung überzeugt man sich, daß derartige Gebilde ganz einfach Konglomerate sind, welche Tusche und Karminkrümlchen verschlungen haben. Nur die Leukocyten allein verschlingen, nach der Meinung dieses Forschers, feste Bröckchen, sie allein besitzen sonst eine phagocytäre Eigenschaft.

Aus dieser Zusammenstellung der Literatur sieht man, wie wenig bisher auf dem Gebiete der Frage über das Schicksal der Bakterien in dem Organismus der Insekten geleistet worden ist. Mit Ausnahme von Balbiani, Kowalewski, Metschnikoff und Krassiltschik, welche Bakterieninjektionen vornahmen, injizierten alle anderen (übrigens in einer Arbeit auch Kowalewski) bloß lösliche und unlösliche Farben und Tusche, und in allen ihren Schlußfolgerungen stützten sie sich auf die Ergebnisse dieser Injektionen. Dazu muß man bemerken, daß irgendwelche Schlüsse über die phagocytäre Eigenschaft eines Organs auf Grund von Injektionen mit löslichen Farben abzuleiten, natürlich unmöglich ist. Was wiederum die Injektionen mit Farben und Tusche anbelangt, so wird ein diese verschlingendes Organ natürlich ein phagocytäres sein, aber dabei muß stets hinzugefügt werden: phagocytär für feste, unlösliche Bröckchen der betreffenden Substanz.

Dieses Organ kann sich als unfähig erweisen, Bakterien, welche für das betreffende Insekt nicht pathogen sind, zu verschlingen und zu verdauen, ebenso kann es sich als unfähig erweisen, auch irgendwelche andere Substanzen organischer Herkunft, wie z. B. äußerst kleine Eier einiger Tiere, Fettkügelchen der Milch, rote Blutkörperchen des Wirbeltierblutes und dem ähnliche Substanzen, mit welchen einzelne Forscher experimentierten, zu verschlingen. Nicht unwahrscheinlich wäre es, anzunehmen, daß die Insekten einige phagocytäre Organe besitzen, von denen jedes die Fähigkeit besitzt, nur bestimmte Substanzen zu verschlingen. Deswegen eben scheint es mir, daß die Autoren, welche eine einzige Substanz injizierten, kein Recht hatten, zu behaupten, daß als phagocytäres Organ bei dem betreffenden Insekt ausschließlich jenes Organ, welches z. B. Farben verschlingt und aufspeichert, diene, und daß deshalb alle übrigen Organe mit der Phagocytose gar nichts zu tun haben, und doch haben sie sich alle zu derartigen Verallgemeinerungen verleiten lassen. Das ist ein Fehler aller oben aufgezählten Arbeiten ohne Ausnahme. Wenn diese Autoren noch einige andere Substanzen injiziert hätten, so würden sie höchst wahrscheinlich zu demselben Widerspruch in ihren Schlußfolgerungen gelangt sein, wie z. B. Kowalewski. Bei Injektionen mit Bakterien im Jahre 1894 kam er zu dem Schlusse, daß das phagocytäre Organ bei den Insekten ausschließlich das Perikardialgewebe sei; bei Injektionen mit Farben zog er den Schluß, daß das Perikardialgewebe nicht im stande sei, feste Substanzen festzuhalten und zu verzehren, und daß nur den Leukocyten eine phagocytäre Fähigkeit eigen sei. Die Kowalewskische Arbeit „Etudes expérimentales etc.“, wo er Injektionen mit Bakterien an verschiedenen Insekten und Mollusken beschreibt, hat einen großen Mangel. Wie

schon oben — in dem ersten Teil meiner Arbeit — hervorgehoben wurde, benutzte er gar keine Kontrolltiere. In seinen Versuchen gingen Insekten zu Grunde, aber was war die Todesursache: der Einfluß der Bakterien, mechanischer Reiz und Verletzung der Gewebe durch den Injektionsprozeß an und für sich oder der Gefangenschaftszustand der Insekten. Das bleibt eine offene Frage. Wir haben nicht die Möglichkeit, aus seiner Arbeit den Schluß abzuleiten, daß die von ihm injizierten Bakterienkulturen für die dem Experimente unterworfenen Tiere pathogen waren, und das ist ein sehr wichtiger Umstand. Wenn die Bakterien nicht pathogen waren, so spielte die „Milz“ zweifellos die Rolle eines phagocytären Organs, wenn sie aber pathogen waren und folglich durch keinerlei Phagocyten gefressen werden durften, so könnte „die Milz“ ganz einfach ein Infektionsherd sein.

Die Balbianische Arbeit ist so kurz und enthält so wenig Angaben über die Anordnung der Versuche an und für sich, daß es unmöglich ist, dieselbe einer Kritik zu unterziehen.

Ich gehe nun zur Beschreibung meiner eigenen Versuche über. Die Darlegung der Versuche, welche den Zweck haben, das Schicksal der Bakterien in dem Organismus der Insekten zu erforschen, beginne ich mit den Versuchen an Seidenraupen. Gewöhnlich wurden die Versuche auf folgende Weise ausgeführt: Einer Partie von 10—11 Insekten injizierte ich mit der Pravaz-Spritze dieselbe Kultur in gleicher Menge, danach wurden in bestimmten Zeitintervallen von jeder Raupe 2 Tropfen Blut genommen — 1 Tropfen für ein mikroskopisches Präparat, der andere zur Aussaat auf die Agarplatte. Die Aussaat sollte die Anwesenheit (oder Abwesenheit) von Bakterien im Blute, ihre Menge und ob im Blute das injizierte Bakterium in Reinkultur war, nachweisen. Dasselbe Insekt wurde fixiert und in Paraffin eingebettet. In der Folge wurden aus ihm mit dem Mikrotom Schnitte angefertigt, um aufzuklären, wo die injizierten Bakterien sitzen, in welchen Geweben und Organen.

Somit konnte ich mir darüber, wo und in welchem Zustande im betreffenden Momente die Bakterien im Insektenleibe sich befinden, ein Urteil bilden aus

- 1) den Aussaaten aus dem Blute auf Agarplatten,
- 2) dem mikroskopischen Blutpräparate,
- 3) den Schnitten durch das ganze Insekt.

Ich injizierte mit einer durch 40 Minuten langes Auskochen sterilisierten Pravaz-Spritze in das 6. oder 5. Bauchsegment, in die rechte Seite. Vordem wurde die Injektionsstelle mit Sublimatlösung (1:1000), Spiritus und sterilem Wasser abgerieben. Blut zu den Aussaaten auf Agarplatten und zu mikroskopischen Präparaten wurde auf folgende Weise entnommen: Das erste Bauchsegment wurde gleichfalls sorgfältig desinfiziert, mit einer ausgeglühten Stahlnadel an der linken Seite des Segmentes ein Einstich gemacht, der austretende Blutstropfen mit der ausgeglühten Platinöse gefaßt und in flüssig gemachtem Agar verrührt, welcher dann in eine Petri-Schale ausgegossen wurde. Der zweite austretende Blutstropfen

wurde ebenfalls mit einer ausgeglühten Platinöse gefaßt und über ein sorgfältig gewaschenes Objektgläschen ausgebreitet. Sämtliche Aussaaten auf Agarplatten wurden ohne Verflüssigung ausgeführt. Die Platten wurden 24 Stunden im Thermostaten (bei 30°) gehalten, und danach zählte ich die Zahl der ausgewachsenen Kolonien. Diese Zahl entsprach der Menge der in dem kleinen Blutstropfen, welcher die Platinöse ausfüllte, enthaltenen Bakterien.

Die mikroskopischen Blutpräparate färbte ich mit wässriger Methylenblaulösung.

Die Schnitte gaben mir infolge schlechter Einbettung und mißlungener Färbung gar kein Material zu irgend welchen Schlüssen. Alles, was mir über das Schicksal von Bakterien im Organismus der Seidenraupe aufzuklären gelungen ist, dieses alles stützt sich ausschließlich auf das von den Plattenverfahren und dem mikroskopischen Blutpräparaten gelieferte Material.

Ich gehe nun zur Beschreibung der Versuche über.

1. Versuch.

Dem Versuch unterzogen wurden 10 Seidenraupen des 5. Alters, ungefähr von gleichem Gewicht. Ihnen wurde eine eintägige (bei 30°) Agarkultur des *Bacterium monachae* (Bakterium No. 2), mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, injiziert. Dieses Bakterium war, wie aus den Versuchen des ersten Teiles meiner Arbeit hervorgeht, für Raupen nicht pathogen. Die Injektionen wurden mit der Pravaz-Spritze in das 6. Bauchsegment ausgeführt, eingeführt wurden 0,2 cm Flüssigkeit, d. h. 4 Tropfen. Blut zur Aussaat auf der Agarplatte und zum mikroskopischen Präparate wurde aus dem 2. Bauchsegment entnommen. Es wurden sämtliche obengenannten Vorsichtsmaßregeln eingehalten.

5 Minuten nach der Injektion entnahm ich Blut zur Aussaat und zum Präparat bei der ersten Raupe und fixierte letztere zu Schnitten. Nach 15 Minuten geschah dasselbe mit der zweiten Raupe, 30 Minuten nach der Injektion mit der dritten Raupe, nach 1 Stunde mit der vierten, nach 2 Stunden mit der fünften, nach 4 Stunden mit der sechsten, nach 6 Stunden mit der siebenten, nach 8 Stunden mit der achten, nach 24 Stunden mit der neunten.

Die Resultate der Aussaaten auf Agarplatten waren folgende:

5 Minuten nach der Injektion waren in einem Tropfen Blut 2863 Bakterien									
15	"	"	"	"	"	"	"	"	5657
30	"	"	"	"	"	"	"	"	8591
1 Stunde	"	"	"	"	"	"	"	"	∞
2 Stunden	"	"	"	"	"	"	"	"	0
4	"	"	"	"	"	"	"	"	18
6	"	"	"	"	"	"	"	"	0
8	"	"	"	"	"	"	"	"	20
24	"	"	"	"	"	"	"	"	6
4×24	"	"	"	"	"	"	"	"	0

Das Zeichen ∞ stelle ich dann, wenn die Platte so viel Bakterien enthielt, daß es unmöglich ist, sie zu zählen, wenn die Platte buchstäblich mit Bakterien überschüttet ist.

Aus den eben angeführten Ziffern sieht man, daß die Bakterienmenge im Blute während der ersten Stunde nach der Injektion

stets anwächst und binnen einer Stunde das Maximum erreicht, eine Menge, welche zu zählen unmöglich ist. In 2 Stunden nach der Injektion wird das Blut steril. Später trifft man bisweilen noch wenig Bakterien, aber schließlich verschwinden sie vollständig (in 4×24 Stunden) und das Blut wird steril, wie vor der Injektion.

Von den Agarplatten, welche mit dem in 15 Minuten, einer Stunde, 4 und 24 Stunden nach der Injektion entnommenen Blute beschickt waren, wurden Uebertragungen auf diverse Nährböden gemacht, welche die Anwesenheit des *Bacterium monachae* (B. No. 2) im Blute der Raupen in Reinkultur erwiesen. Die mikroskopischen Blutpräparate bestätigen den Befund auf den Agarplatten: Auf denselben sieht man, daß anfänglich die Bakterienmenge stetig anwächst, aber beginnend mit dem in 2 Stunden nach der Injektion angefertigten Präparat, lassen sich fast keine Bakterien entdecken. Mitunter sieht man zufällig 1—2 Bakterien im Gesichtsfeld.

Eine Ab- oder Zunahme der Leukocytenzahl ist nirgends zu sehen; ebensowenig sieht man eine Verzehrerung der Bakterien durch Leukocyten. Auf Grund der Präparate scheint es mir, daß die Leukocyten sich den Injektionen gegenüber ganz indifferent verhalten.

2. Versuch.

Injiziert wurde dieselbe für Raupen nicht pathogene Kultur des Bacteriums No. 2, *Bacterium monachae* (Tubeuf), aber dabei wurde keine Agarkultur, wie im 1. Versuch, sondern eine Bouillonkultur (eintägige bei 30° im Thermostaten) benutzt. Alles Uebrige, mit Ausnahme dieses Unterschiedes, wurde ebenso gemacht, wie im 1. Versuch. Experimentiert wurde mit 10 Raupen; jeder von dieser wurde 0,2 ccm Flüssigkeit, 4 Tropfen injiziert.

Blut zur Aussaat auf Platten und zu Präparaten entnahm und die Raupen fixierte ich in denselben Zeitintervallen nach der Injektion, wie im 1. Versuch.

Die Aussaaten auf Agarplatten ergaben folgende Resultate:

5 Minuten nach der Injektion waren im Blute 7071 Bakterien							
15	"	"	"	"	"	"	8019
30	"	"	"	"	"	"	∞
1 Stunde	"	"	"	"	"	"	8485
2 Stunden	"	"	"	"	"	"	6300
4	"	"	"	"	"	"	628
6	"	"	"	"	"	"	785
8	"	"	"	"	"	"	36
24	"	"	"	"	"	"	0
4×24	"	"	"	"	"	"	0

Man sieht, daß in der ersten Zeit nach der Injektion die Bakterienzahl im Blute stetig anwächst. In einer halben Stunde ist sie so groß, daß die Platte buchstäblich mit Kolonien überschüttet ist, das ist das Maximum. In einer Stunde nach der Injektion ist die Bakterienzahl viel kleiner geworden, sie beträgt im ganzen 8485. Danach verringert sich die Bakterienzahl progressiv, fällt in 8 Stunden auf nur 36 Bakterien, und in 24 Stunden wird das Blut steril, so wie es vor der Injektion war, dasselbe auch in 4×24 Stunden.

Die mikroskopischen Präparate bestätigen den Befund bei dem Plattenverfahren. Die Bakterienzahl auf den Präparaten ist anfangs recht groß, weiter steigt sie noch und erreicht ihr Maximum in $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion. Weiter beginnt sie zu sinken und auf einem Präparate aus nach 24 Stunden entnommenem Blute lassen sich bereits keine Bakterien mehr entdecken.

Somit läßt sich auf Grund der beiden angeführten Versuche folgendes aussprechen: Bei Injektionen mit einem für Raupen nicht pathogenen Bakterium (*Bacterium monachae* Tubeuf) beobachtet man anfangs bei Benutzung sowohl einer Agar- als auch einer Bouillonkultur ein Anwachsen der Bakterienzahl. Diese Zahl erreicht ihr Maximum im ersten Fall in 1 Stunde, im zweiten in $\frac{1}{2}$ Stunde, und beginnt zu fallen. Falls eine Bouillonkultur injiziert war, geht die Abnahme der Bakterienzahl im Blute sehr langsam vor sich; wenn aber eine Agarkultur injiziert war, nimmt die Bakterienzahl binnen 1 Stunde nach der Injektion sehr schroff ab, das Blut wird steril.

Der Unterschied zwischen Injektionen von Agar- und Bouillonkultur ist noch darin ersichtlich, daß in dem ersten Falle die absolute Bakterienzahl im Blute größer ist, als im zweiten. So waren 5 Minuten nach der Injektion im ersten Falle 7071 Bakterien, bei Injektion einer Agarkultur 2863 Bakterien.

Im allgemeinen kommt das Schicksal eines nicht pathogenen Mikroorganismus im Blute der Seitenraupe, einerlei ob ins Blut eine Bouillon- oder Agarkultur injiziert worden ist, darauf heraus, daß in 24 Stunden (spätestens) die Bakterien vollständig aus dem Blute schwinden, und letzteres wieder steril wird.

Ich gehe nun zur Beschreibung der Versuche mit einem pathogenen Bakterium der Kultur No. 1, *Bacillus flascherie* (Hofmann), über:

3. Versuch.

Dem Versuch unterlagen 9 Seidenraupen, des fünften Alters, von annähernd gleichem Gewicht. Ihnen wurde eine eintägige (bei 30°), mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu leicher Trübung aufgeschwemmte Agarkultur injiziert. Injiziert wurde mit der Pravaz-Spritze, jedesmal wurden 4 Tropfen Flüssigkeit eingeführt. Alles geschah ganz ebenso, wie im Versuch No. 1, ich übergehe darum die Technik des Versuches und wende mich der Beschreibung der Ergebnisse der Aussaaten auf Agarplatten zu:

5 Minuten nach der Injektion waren in einem Tropfen Blut	1493 Bakterien
15 " " " " " " " " "	7446 "
30 " " " " " " " "	1179 "
1 Stunde " " " " " " " "	2000 "
2 Stunden " " " " " " " "	7446 "
4 " " " " " " " "	∞ "
6 " " " " " " " "	∞ "
8 " " " " " " " "	∞ "
20 " " " " " " " "	∞ "

20 Stunden nach der Injektion war die neunte Raupe schon tot, und ich beschickte Platten mit dem Blute der scheinbar

eben abgestorbenen Raupe. Die angeführten Zahlen zeigen, daß die Bakterienzahl im Blute anfangs steigt (15 Minuten nach der Injektion), danach etwas fällt (30 Minuten). Nach 1 Stunde steigt sie wieder, und 2 Stunden nach der Injektion wird dieselbe sehr groß, die Agarplatte ist mit Kolonien überschüttet. Die weiteren quantitativen Veränderungen zu verfolgen, ist unmöglich, weil alle 4, 6, 8 und 20 Stunden nach der Injektion beschickten Platten mit Kolonien besät sind, so daß es unmöglich ist, die Bakterienmenge im Blute zu zählen. Ich kann nur sagen, daß, je mehr Zeit nach der Injektion verflossen ist, desto dichter die Platten mit Kolonien besät sind. Uebertragungen aus allen Platten auf diverse Nährböden erwiesen, daß im Blute eine Reinkultur des *Bacillus flascherie* enthalten war.

Die Blutpräparate bestätigen das, was die Platten ergaben. Anfangs steigt die Bakterienzahl ein wenig, danach (nach $\frac{1}{2}$ Stunde) fällt sie, das ist das Minimum. Darauf beginnt sie wieder zu steigen und erreicht eine immense Größe, so daß makroskopisch das Blut ganz trübe wird, und das mikroskopische Präparat mit Bakterien besät ist. Die Leukocytenzahl in den Präparaten bleibt unverändert; ich habe nirgends beobachtet, daß Leukocyten die Bakterien verzehren.

4. Versuch.

Dieser Versuch ist nur eine Wiederholung des vorigen (Versuch No. 3), mit dem Unterschiede, daß Raupen des 5. Alters nicht mit einer Agarkultur, sondern einer Bouillonkultur (eintägige bei 30°) desselben Bakterium No. 1, *Bacillus flascherie* (Hofmann), geimpft wurden. Dem Versuch unterlagen 9 Raupen. Aussaaten auf Agarplatten ergaben folgende Resultate:

5 Minuten nach der Injektion waren in einem Tropfen Blut 11 314 Bakterien									
15	"	"	"	"	"	"	"	"	15 400
30	"	"	"	"	"	"	"	"	26 085
1 Stunde	"	"	"	"	"	"	"	"	25 457
2 Stunden	"	"	"	"	"	"	"	"	24 057
4	"	"	"	"	"	"	"	"	23 486
6	"	"	"	"	"	"	"	"	23 541
8	"	"	"	"	"	"	"	"	27 435
18	"	"	"	"	"	"	"	"	∞

In 18 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion starb die 9. Raupe. Ein Blutstropfen zur Aussaat wurde $\frac{1}{2}$ Stunde vor dem Tode entnommen. Wir sehen, daß anfangs die Bakterienzahl progressiv steigt, binnen $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Injektion bis zu 26085 Bakterien in einem Blutstropfen anwächst; 1 Stunde nach der Injektion fällt die Bakterienzahl ein wenig, und zwar bis zu 25457. Weiter fährt sie fort zu fallen und kommt auf 23487 in 4 Stunden nach der Injektion, das ist das Minimum. Später steigt die Bakterienzahl von neuem, wächst sehr langsam an und erreicht schließlich vor dem Tode eine Größe, welche auf der Platte nicht mehr gezählt werden kann.

Impfungen von allen Platten auf verschiedene Nährböden er-

weisen, daß das Blut der Raupen eine Reinkultur des Bakteriums No. 1, *Bacillus flascherie* (Hofmann), enthielt.

Was die mikroskopischen Blutpräparate anbelangt, so werde ich dieselben nicht beschreiben, sie sind fast eine genaue Kopie der Präparate im Versuche No. 3. Der einzige Unterschied besteht darin, daß die Bakterienzahl in den Präparaten des Versuches No. 4 bedeutend größer ist, als im Versuche No. 3, und daß das Präparat mit der minimalen Bakterienzahl auf die Zeit von 4 Stunden nach der Injektion, und nicht $\frac{1}{2}$ Stunde, wie im Versuche No. 3 fällt.

Somit beobachten wir bei Injektionen mit einem pathogenen Bacterium, einerlei, ob es Bouillon- oder Agarkultur ist, folgendes: Anfangs steigt die Bakterienzahl im Blute, erreicht ein gewisses Maximum, danach fällt sie, erreicht ihr Minimum, weiter beginnt sie von neuem zu steigen und erreicht vor dem Tode das zweite Maximum.

Der Unterschied zwischen Injektionen von Bouillon- und Agarkultur ist folgender: bei einer Injektion von Bouillonkultur werden mehr Bakterien eingeführt, als mit einer Agarkultur. Bei Injektion von Agarkultur tritt die Abnahme der Bakterienzahl früher ein und pflegt bedeutender zu sein, als bei Injektion von Bouillonkultur; das zweite Maximum tritt auch früher ein, als bei Injektion von Bouillonkultur.

Vergleicht man nun die Versuchsergebnisse mit pathogenen und nicht pathogenen Bakterien, so besteht der Hauptunterschied zwischen ihnen natürlich in dem Schlußeffekt. Doch in beiden Fällen ist der anfängliche Veränderungsgang der Bakterienzahl im Blute beispielsweise ein und derselbe. Bei Impfung sowohl mit pathogenen, als auch mit nicht pathogenen Bakterien beobachten wir anfangs eine Steigerung der Bakterienzahl im Blute (erstes Maximum), danach fällt ihre Menge; diese Abnahme schreitet bei Impfung mit nicht pathogenen Bakterien bis zum totalen Schwunde der Bakterien aus dem Blute fort. Wenn aber mit pathogenen Bakterien geimpft wurde, so tritt nach Abnahme des Bakteriengehaltes im Blute eine Steigerung ihrer Menge ein, ein zweites Maximum; die Steigerung im Blute endet mit dem Tode des Insektes, kurz vordem sind in einem Blutstropfen enorme Bakterienmengen vorhanden.

Was die mikroskopischen Blutbilder anbelangt, so konnte ich in keinem Falle, bei Impfung sowohl mit pathogenen als auch mit nicht pathogenen Bakterien, eine Verzehung von Bakterien durch Leukocyten oder irgend welche andere Zellen beobachten.

Ich gehe nun zur Darlegung meiner Versuche an Küchenschaben über: Wie ich bereits in dem ersten Teil meiner Arbeit ausgesprochen habe, gelang es mir nicht, ein für diese Insekten nicht pathogenes Bakterium ausfindig zu machen, weswegen ich bloß das Schicksal pathogener Bakterien verfolgen konnte.

Sämtliche Versuche wurden nur mit einer Kultur ausgeführt: Mit einer eintägigen mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu leichter Trübung aufgeschwemmten Agarkultur des Bakteriums

No. 1. Die Injektionen wurden mit der Pravaz-Spritze, welche durch 40 Minuten langes Auskochen sterilisiert wurde, ausgeführt; jede Schale bekam 0,05 ccm Flüssigkeit injiziert. Die Injektionen wurden in die Schiene des linken Beinchens des dritten Paares ausgeführt. Vordem wurde das Füßchen mit Sublimatlösung (1:1000), Spiritus und sterilem Wasser abgewaschen. Bei der Entnahme von Blut zu Aussaaten auf Agarplatten und zu Präparaten verfuhr ich folgendermaßen: Ich wusch sorgfältig das rechte Füßchen des dritten Paares mit Sublimatlösung (1:1000), Spiritus und sterilem Wasser, machte mit einer ausgeglühten Stahlnadel einen Einstich in die Wade, faßte den austretenden Blutstropfen mit der ebenfalls ausgeglühten Platinöse, beschickte mit diesem Tropfen eine Agarplatte, benutzte den folgenden Blutstropfen zur Anfertigung eines mikroskopischen Präparates. Die Kolonien auf den Platten zählte ich nach 24 Stunden. Die mikroskopischen Präparate wurden mit wässriger Methylenblaulösung gefärbt.

Die Küchenschaben wurden in Apáthyscher und Langscher Lösung fixiert.

Bei der Einbettung hielt ich sie in reinem Paraffin (Temperatur 54°C) durch 4—4½ Wochen; die erhaltenen Schnitte waren ziemlich schlecht, was ich meiner Konservierungsmethode schuld gebe; ich bettete ein und schnitt ganze Insekten, anstatt Organteile. Wie bekannt, gelingen sehr selten Schnitte aus mit Chitin bedeckten Insekten.

1. Versuch.

Benutzt wurden 9 Schaben; injiziert wurde eine eintägige (bei 30°) Agarkultur des Bacterium No. 6. Bei der ersten Schabe wurde aus dem Blute eine Aussaat auf eine Agarplatte und ein mikroskopisches Präparat gemacht, die Schabe selbst 5 Minuten nach der Injektion fixiert. Ebenso wurde mit der zweiten 15 Minuten nach der Injektion verfahren.

Ebenso mit der dritten	nach ½	Stunde
„ „ „	vierten	1 „
„ „ „	fünften	2 Stunden
„ „ „	sechsten	4 „
„ „ „	siebenten	6 „
„ „ „	achten	8 „
„ „ „	neunten	20 „

Die 9. Schabe starb 19½ Stunden nach der Injektion; Aussaat und mikroskopisches Präparat wurden nach ihrem Tode gemacht, ebenso wurde sie gleichfalls ungefähr ½ Stunde nach dem Tode konserviert.

Die Aussaaten auf Platten ergaben folgende Resultate: Im Blute der Küchenschaben waren

5 Minuten nach der Injektion	20 900 Bakterien
15 „ „ „ „	∞ „
30 „ „ „ „	∞ „
1 Stunde „ „ „ „	18 „
2 Stunden „ „ „ „	0 „
4 „ „ „ „	10 „
6 „ „ „ „	12 „
8 „ „ „ „	50 „
20 „ „ „ „	∞ „

Die angegebenen Zahlen zeigen, daß die anfängliche, an und für sich ziemlich bedeutende (in 5 Minuten 29 900) Bakterienzahl im Blute danach äußerst schnell steigt; sie wird so hoch, daß auf 15—30 Minuten nach der Injektion beschickten Platten es unmöglich ist, die Kolonien zu zählen, die Agarplatten sind buchstäblich mit Bakterien überschüttet. Das ist das erste Maximum. Danach nimmt die Bakterienzahl schroff ab; in 1 Stunde sind ihrer nur 18, in 2 Stunden wird das Blut steril, totaler Schwund der Bakterien, Minimum. In 4 Stunden beginnen die Bakterien wieder im Blute zu erscheinen; anfangs sind ihrer nur 10 im Blutstropfen vorhanden, in 6 Stunden 12, in 8 Stunden 50. Somit steigt ihre Zahl, wenn auch sehr langsam. In 20 Stunden, gleich nach dem Tode, ist ihre Zahl wieder sehr hoch, die Agarplatte ist buchstäblich mit Kolonien überschüttet. Das ist das Maximum.

Uebertragungen auf verschiedene Nährböden von der Mehrzahl der Agarplatten erwiesen, daß im Blute der Schaben das Bakterium No. 6 in Reinkultur enthalten war.

Mikroskopische Präparate aus dem Blute der Schaben bestätigen den Befund auf den Platten und besitzen außerdem auch in anderer Hinsicht einiges Interesse.

Präparate, welche aus dem Blute nach 5, 15 und 30 Minuten angefertigt waren, sind mit Bakterien besät. Die Bakterien sind feine, kurze Stäbchen. Auf allen Präparaten sieht man viele Leukocyten mit einem runden Kern, umgeben von einem ziemlich breiten Protoplasmaring. Die Leukocyten fressen nirgends die Bakterien. Auf 1, 2, 4 und 6 Stunden nach der Injektion angefertigten Präparaten konnte ich keine Bakterien finden. Alle Leukocyten waren einförmige kleine Zellen, wie ich sie schon beschrieben habe. Auf einem nach 8 Stunden angefertigten Präparate trifft man hin und wieder im Blutplasma Bakterien in beschränkter Zahl, aber das sind schon keine feinen, mit der injizierten Kultur identischen Stäbchen, sondern dickere und von etwas größeren Dimensionen. Außer den Leukocyten sieht man im Blute andere Zellen: Diese sind 4—5mal größer, als die Leukocyten, mit zwei sich gut färbenden Kernen und mit Bakterien angefüllt. Einige Zellen enthielten bis zu 20—25 Bakterien. Letztere sind von zweierlei Art, die einen, dicke Stäbchen, welche frei im Blutplasma gelegen anzutreffen sind, die anderen, dünne mit der injizierten Kultur identische Stäbchen. Ein 20 Stunden nach der Injektion angefertigtes Blutpräparat ist ganz mit Bakterien besät. Das sind dicke, grobe Stäbchen. Formelemente sind nicht zu sehen. Da ich von allen Platten Impfungen auf verschiedene Nährböden machte und diese mir erwiesen, daß allerwärts eine Reinkultur des Bakteriums No. 1 vorhanden war, so ist es klar, daß die dicken groben Stäbchen eine Kultur des nämlichen Bakteriums No. 6, welches unter dem Einfluß von Wachstum auf einem natürlichen Nährboden sich morphologisch verändert hat, vorstellen.

2. Versuch.

Dieser Versuch ist nur eine Wiederholung des 1. Versuches, mit dem Unterschiede bloß, daß ich im 1. Versuche eine $\frac{1}{2}$ Jahr

hindurch auf künstlichen Nährböden gezogene Kultur, hier dagegen eine Kultur, welche eine Woche vor dem Versuch eine Passage durch den Schabenkörper durchgemacht hatte, injizierte. Injiziert wurde das Bakterium No. 6, eine mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu leichter Trübung aufgeschwemmte Agarkultur. Dem Versuch unterlagen 10 Küchenschaben. Noch eine kleine Veränderung: Bei diesem Versuche machte ich keine Aussaat aus dem Blute 5 Minuten nach der Injektion, dafür säte ich nach 3 Stunden aus, was ich im 1. Versuche nicht getan hatte.

Die Aussaaten auf Agarplatten ergaben folgende Resultate: Im Blute waren

15 Minuten nach der Injektion	∞	Bakterien
30	9200	"
1 Stunde	2687	"
2 Stunden	2350	"
3	24	"
4	93	"
6	∞	"
8	∞	"

Später als nach 8 Stunden konnte ich kein Blut zur Aussaat und zu einem mikroskopischen Präparat entnehmen, weil die beiden letzten Schaben noch vor 8 Stunden, und zwar $7\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion, abstarben.

Die angegebenen Zahlen zeigen, daß anfangs, 15 Minuten nach der Injektion, die Bakterienzahl im Blute sehr hoch war — erstes Maximum, nach 30 Minuten ist die Zahl bedeutend gesunken und fährt weiter fort zu fallen. Auf einer in 3 Stunden angefertigten Platte sehen wir nur 24 Kolonien — das ist das Minimum. 4 Stunden nach der Injektion steigt die Bakterienzahl im Blute von neuem und erreicht schon 93. In 6 Stunden ist sie bereits so hoch, zweites Maximum, daß es unmöglich ist, die Kolonien auf der Platte zu zählen, sie ist mit Kolonien überschüttet; dasselbe in 8 Stunden.

Die Resultate dieses Versuches sind mit denen des 1. Versuches übereinstimmend; ein Unterschied besteht nur darin, daß eine mehr virulente Kultur injiziert worden war, und deswegen tritt das Minimum wahrscheinlich viel später ein, als in dem ersten Versuche, und das zweite Maximum bedeutend früher. Bereits nach 6 Stunden ist die Platte mit Bakterien besät, während bei dem 1. Versuche nach 6 und nach 8 Stunden die Bakterienzahl im Blute noch sehr unbedeutend ist.

Die mikroskopischen Blutpräparate ähneln sehr den Präparaten des 1. Versuches, mit dem Unterschiede, daß bereits 4 Stunden nach der Injektion große doppelkernige, mit Bakterien angefüllte Zellen auftreten. Alles übrige, mit Ausnahme des früheren Auftretens dieser Zellen, stimmt genau mit der Beschreibung der Präparate des 1. Versuches überein. An dieser Stelle möchte ich einige Worte über das Wesen dieser Zellen fallen lassen. Nach einem Studium von Schnitten einer normalen Küchenschabe kam ich zu der Ueberzeugung, daß diese großen Zellen nichts anderes sein können, als Zellen des Perikardialgewebes. Nur die Zellen des Perikards haben zwei Kerne; ihren Dimensionen nach (10—20 μ) stehen sie diesen großen Bakterien nahe. Was

nun die Anwesenheit von Bakterien innerhalb dieser Zellen anbelangt, so scheint es mir, daß das Verschwinden der Bakterien aus dem Blute mit dem Uebergange derselben in das Perikardialgewebe verbunden ist, wobei einzelne Perikardialzellen die Ueberfüllung mit Bakterien nicht aushalten, abgelöst und vom Blutstrom fortgerissen werden. Viele platzen wahrscheinlich ganz, und die Insassen, dicke grobe Stäbchen, treten frei ins Blut über.

3. Versuch.

Dieser Versuch wurde anders angestellt als No. No. 1 und 2; injiziert wurde eine mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu leichter Trübung aufgeschwemmte Agarkultur desselben Bakteriums No. 6. Ein Unterschied besteht darin, daß nur im ganzen 2 Küchenschaben benutzt wurden; bei jeder von dieser wurde Blut zu Aussaaten abwechselnd je 4 mal entnommen. Am besten wäre es, mit einer Schabe zu experimentieren, dann hätte man das exakteste Resultat erzielt, aber das ist unmöglich auszuführen, weil eine Küchenschabe nicht im stande wäre, eine so intensive Blutentziehung auszuhalten. Deswegen nahm ich zu dem Versuch 2 Küchenschaben.

Aus ihrem Blute machte ich nur Aussaaten auf Agarplatten; mikroskopische Präparate wurden nicht angefertigt:

Bei der ersten Schabe waren im Blutstropfen

15 Minuten nach der Injektion	19 800 Bakterien
1 Stunde	2 042 "
3 Stunden	2 200 "
6 " "	472 "

Bei der zweiten:

30 Minuten nach der Injektion	8 175 Bakterien
2 Stunden	2 114 "
4 " "	1 496 "
8 " "	∞ "

Fassen wir beide Tabellen zusammen, so erhalten wir im Blute

15 Minuten nach der Injektion	19 800 Bakterien
30 " "	8 175 "
1 Stunde	2 042 "
2 Stunden	2 114 "
3 " "	2 200 "
4 " "	1 496 "
6 " "	472 "
8 " "	∞ "

Nach 8 $\frac{1}{2}$ Stunden starben beide Schaben, trotzdem eine Kultur, welche ein halbes Jahr hindurch auf künstlichen Nährböden vegetiert hatte und welche unter gewöhnlichen Umständen in 18–20–25 Stunden zum Tode führt, injiziert worden war. Der vorzeitige Todeseintritt läßt sich nur dadurch erklären, daß die Küchenschaben durch die Blutentnahme geschwächt waren.

Die angegebenen Zahlen zeigen, daß die anfänglich ziemlich große Bakterienzahl im Blute (15 Minuten nach der Injektion 19 800) in der Folge abzunehmen beginnt; die Abnahme geht langsam und stufenweise vor sich. Die Bakterienzahl im Blute ist am niedrigsten 6 Stunden nach der Injektion, im ganzen 472 Bakterien. Danach nimmt sie rapid zu; in 8 Stunden ist sie so hoch, daß es auf der Agarplatte unmöglich ist, die Kolonien zu zählen; sie ist mit letzteren überschüttet.

4. Versuch.

Genaue Wiederholung des vorigen nur mit dem Unterschiede, daß bei jeder der Küchenschaben Blut im ganzen 2 mal entnommen wurde.

Bei der ersten in 15 Minuten und 8 Stunden nach der Injektion; bei der zweiten in 2 und 24 Stunden nach der Injektion.

Die Resultate der Aussaaten auf Platten (ich lasse direkt die summierte Tabelle folgen) sind folgende:

15 Minuten nach der Injektion	waren im Blutstropfen	9552 Bakterien
2 Stunden	" " " " " "	∞ "
8	" " " " " "	452 "
24	" " " " " "	∞ "

Die Küchenschaben starben, eine in 22, die andere in 25 Stunden.

Somit läßt sich auf Grund der angeführten Versuche an Küchenschaben folgender Veränderungsgang der Bakterienzahl im Blute konstatieren: Bald nach der Injektion ist die Bakterienzahl im Blute ziemlich erheblich, doch danach fällt sie allmählich und erreicht bisweilen Null. Nach einem solchen Minimum beginnt die Bakterienzahl im Blute zu steigen und kurz vor dem Tode ist sie stets unendlich hoch.

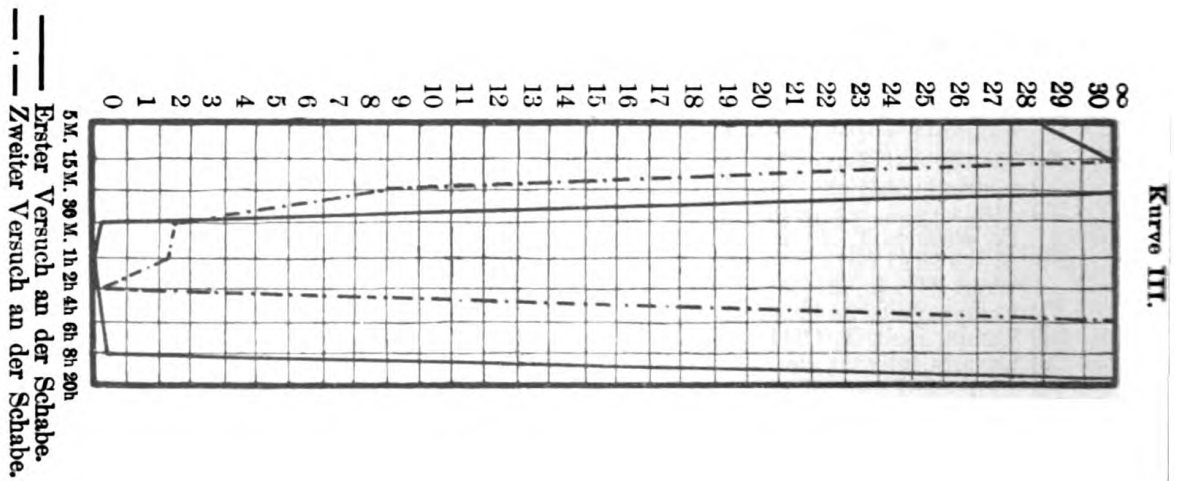
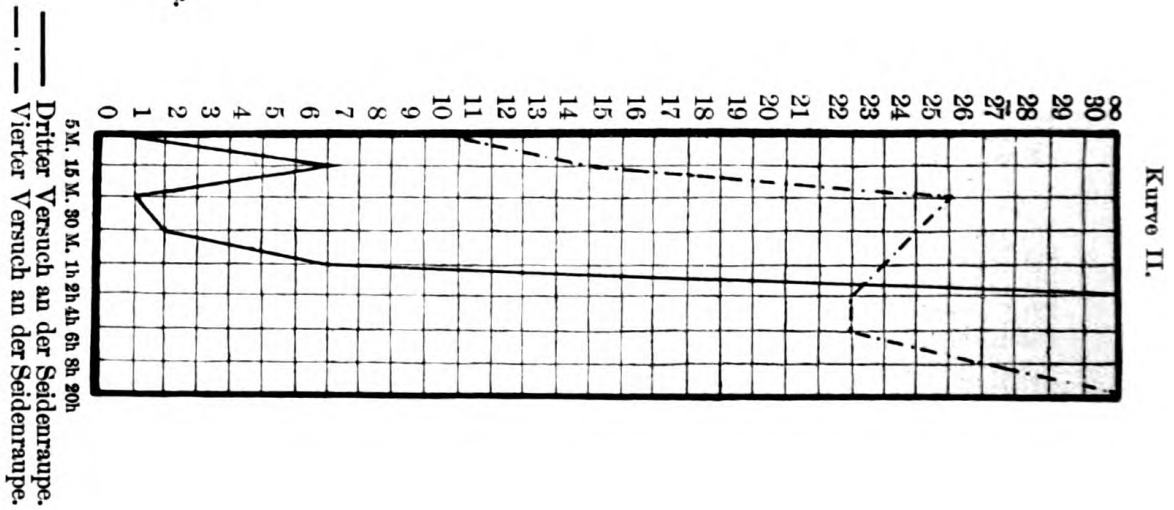
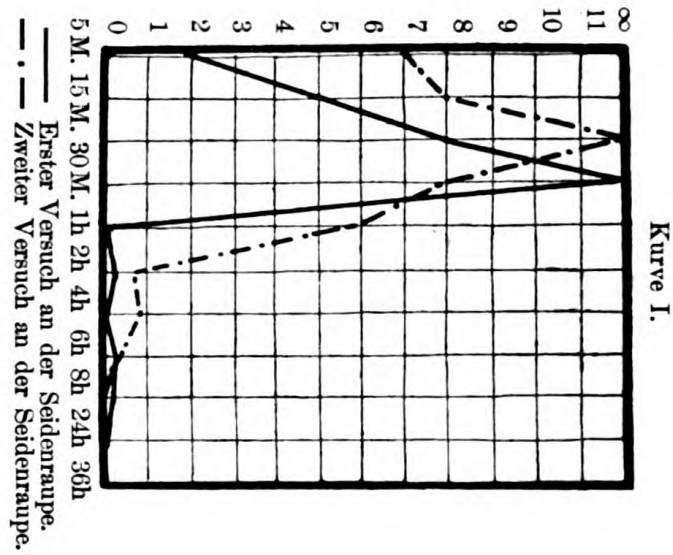
Vergleicht man die Versuchsergebnisse an Küchenschaben und an Seidenraupen bei Injektion von für diese pathogenen Bakterien, so muß man bekennen, daß sie vollkommen identisch sind. Die Bakterienzahl im Blute steigt bei den einen wie bei den anderen, in der ersten Zeit nach der Injektion, beginnt danach zu fallen, gelangt bis zu einem gewissen Minimum, steigt sodann wieder und wird vor dem Tode außerordentlich hoch. Behufs einer besseren Uebersichtlichkeit lasse ich am Ende dieser Arbeit 3 Tabellen mit Kurven folgen, welche den Veränderungsgang der Bakterienzahl im Blute der Küchenschabe und der Seidenraupe nach Injektionen, in den Versuchen No. 1, 2, 3 und 4 für die Seidenraupe und den Versuchen No. 1 und 2 für die Küchenschabe veranschaulichen.

Damit beende ich meine Arbeit. Zu meinem Bedauern ist mein ursprünglicher Plan, Schritt für Schritt das Schicksal pathogener und nicht pathogener Bakterien im Leibe der Küchenschabe und der Seidenraupe zu verfolgen, wegen meines oben erwähnten Mißgeschickes bei Erzielung guter Schnitte nicht von Erfolg gekrönt worden. Die von mir angeführten Daten beziehen sich nur auf Untersuchung des Blutes der Insekten, und deswegen wage ich es auch nicht, hier in Anbetracht der Unvollständigkeit meiner Untersuchungen irgend welche theoretische Verallgemeinerungen in der von mir berührten Frage über das Schicksal der Bakterien im Insektenleibe zu unternehmen.

Zum Schluß ist es meine angenehme Pflicht, dem Herrn Direktor der bakteriologisch-agronomischen Station, Severin, und dem Herrn Komiteemitglied der Station, Privatdozenten Woronin, für ihre stetige Unterstützung und Anleitung bei Ausführung meiner Arbeit meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Pasteur, Etudes sur les maladies des vers à soie.
- 2) Baumgarten, Lehrbuch der pathologischen Mykologie. 1886.
- 3) Beschamp, Les microzymas.
- 4) Baumgartens Jahresbericht. 1891.
- 5) Tichomiroff, Grundriß der praktischen Seidenzucht. 1895. [Russ.]
- 6) Sur les microbes de la flacherie et de la grasserie des vers à soie. (Compt. rend. de l'Acad. de sc. Paris 1896.)
- 7) Publicat. de la Station séricicole de Montpellier. 1874.
- 8) Gorbatscheff, Kultivierungsversuche von Mikroorganismen, welche bei der Schlafsucht der Seidenraupe anzutreffen sind. (Arbeiten der Kaukasischen Seidenzucht-Versuchsstation. Bd. III. 1899. [Russ.] — Derselbe, Ein Beitrag zur Hereditätsfrage der Schlafsucht. (Ibid. Bd. VII. Heft 2. p. 36.)
- 9) Schmuindsinewitsch, Ein Beitrag zur Hereditätsfrage der Schlafsucht. (Ibid. Bd. IV. p. 107.)
- 10) Bolle, Der Seidenbau in Japan. Die Gelb- und Fettsucht der Seidenraupen, eine parasitäre Krankheit. 1898.
- 11) Gorbatscheff, Ein Beitrag zur Frage über die Ursachen der Gelbsucht der Seidenraupen. (Arbeiten der Kaukasischen Seidenzuchtstation. Bd. X. p. 56.)
- 12) Kawrayski, Einiges über die Gelbsucht der Seidenraupen. (Arbeiten der Kaukasischen Seidenbau-Versuchsstation. Bd. X. p. 15.)
- 13) Lehrbuch der pathologischen Mykologie. 1886.
- 14) Centralbl. f. Bakt. 1892.
- 15) Centralbl. f. Bakt. (Baumgartens Jahresbericht. 1891.)
- 16) Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschr. Bd. I. 1892.
- 17) Centralbl. f. Bakt. 1894.
- 18) Severin, Bakterien in ihrem Verhältnis zu dem Organismus der Insekten. (Arbeiten aus der bakteriologisch-agronomischen Station in Moskau. 1895. No. 4.)
- 19) Ibid. p. 26.
- 20) Ibid.
- 21) Centralbl. f. Bakt. 1892.
- 22) Severin, p. 21.
- 23) Eckstein, Untersuchungen über die in Raupen vorkommenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1895. p. 292.)
- 24) Eckstein, Niedere Organismen im Raupenblut. (Forstl.-naturwissenschaftliche Zeitschrift. 1892.)
- 25) Eckstein, Infektionsversuche und sonstige Beobachtungen an Nonnenraupen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901. p. 733.)
- 26) Baumgarten, Lehrbuch der pathol. Mykologie. 1887.
- 27) Harrison, The foul brood of bees. *Bacillus Alvei*. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1900.)
- 28) Arbeiten der Bakteriologisch-agronomischen Station in Moskau. No. 4.
- 29) Sorokin, Pflanzliche Parasiten. Bd. IV.
- 30) Baumgartens Jahresbericht. 1892.
- 31) Congrès internat. Zool. Moscou. 1892. p. 1, 2^{me} partie.
- 32) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1897. p. 87.
- 33) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1899. p. 263.
- 34) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1899. p. 456.
- 35) Mélanges biologiques tirés du Bulletins de l'Acad. Imp. des Sciences de St. Pétersb. T. XIII.
- 36) Metschnikoff, Immunité dans les maladies contagieuses. Paris 1901. Chap. III. p. 43—44.
- 37) Compt. rend. de l'acad. d. sc. Paris 1886.
- 38) Compt. rend. T. CIII. 1886. 15 nov.
- 39) Congrès internat. de zool. à Moscou 1892.
- 40) Paris 1901.
- 41) Bull. acad. sc. St. Pétersbourg 1894. t. XIII.
- 42) Bull. acad. sc. St. Pétersbourg. T. II. 1894. No. 1.
- 43) Congrès internat. de zool. à Moscou 1892.
- 44) Bull. acad. sc. St. Pétersbourg. T. IV. No. 1. p. 51—72.
- 45) Arbeiten a. d. zool. Laborat. d. Univ. Warschau. Bd. II. 1898. p. 120.
- 46) Ibidem. 1897. p. 187.



Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Papilionaceen bewohnenden Uromyces-Arten.

Von **Ernst Jordi**.

Mit 37 Fig.

Einleitung.

Auf Anregung von Herrn Professor Dr. Ed. Fischer stellte ich mir die Aufgabe, die entwicklungsgeschichtlichen und biologischen Verhältnisse einiger Papilionaceen bewohnender Uromyces-Arten experimentell zu prüfen. Vor allem wurden die Formen, von denen nur Uredo- und Teleutosporen bekannt waren, also die sogenannten Hemiuromyces, von Winter¹⁾ zusammengefaßt zu der Art Uromyces Genistae tinctoriae (Pers.), berücksichtigt. Ferner sollten Uromyces Fabae (Pers.) und Uromyces Pisi (Pers.), über deren Spezialisierung bisher nur wenige Versuche ausgeführt worden sind, Uromyces Ervi (Wallr.) Plowr. und Uromyces Hedysari obscuri (DC.) in Bezug auf ihre Aecidienwiederholung einer Prüfung unterzogen werden.

Versuchseinrichtung²⁾.

Die Infektionsversuche, über die im nachfolgenden berichtet wird, sind im Frühling und Sommer 1903 ausgeführt worden. Bei den ersten Versuchen wurden Sämlinge oder schon im Herbst 1902 im Freien oder im botanischen Garten ausgegrabene und in offenen Kasten überwinterte Pflanzen mit Teleutosporenmaterial belegt. Dieses Infektionsmaterial wurde im Herbst 1902 gesammelt und in Tuchsäckchen im Freien überwintert. Im März dieses Jahres wurde es auf eine schattige und trockene Laube, wo es den Niederschlägen nicht direkt ausgesetzt war, gebracht.

Sollte ein Versuch eingeleitet werden, so wurde, wie folgt, verfahren:

Am Morgen wurden die gesunden Pflanzen, die bis zur Verwendung im offenen Kasten standen, in das Versuchslokal geholt; hernach wurde das Infektionsmaterial zum Aufweichen in Wasser gelegt und nachmittags, nachdem es 4—5 Stunden darin gelegen hatte, leicht abgetrocknet auf junge Blätter und Triebe der Versuchspflanzen aufgelegt. Zu gleicher Zeit wurden jeweilen bei den meisten Versuchen kleine Proben von Infektionsmaterial auf Objektträger gelegt, unter Glasglocken feucht gehalten und während einiger Tage zur Prüfung der Keimfähigkeit der Sporen unserer

1) Winter, Die Pilze Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz. p. 146.

2) Vgl. Fischer, Ed., Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bd. I. Heft 1. p. 1 u. 2.

Beobachtung unterworfen. Auch die Versuchspflanzen wurden nach dem Auflegen des Materials mit Glasglocken, welche mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleidet waren, bedeckt, während 3—5 Tagen darunter genügend feucht gehalten und nachher in ein Gewächshaus gebracht, woselbst sie bis zum Veruchsabschlusse verblieben.

Bei den Aecidio- und Uredosporenversuchen, die größtenteils während dieses Sommers eingeleitet worden sind, wurde ähnlich verfahren, jedoch wurde das kurz vorher gesammelte, frische Infektionsmaterial gewöhnlich nicht aufgelegt, sondern dasselbe wurde in möglichst wenig Wasser stark geschüttelt, und die sporenhaltige Flüssigkeit mit dem Bestäuber hernach so aufgetragen, daß namentlich auf die Blattunterseiten möglichst viele Sporen gelangten.

Sämtliche Arbeiten wurden unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln ausgeführt, um Versuchsverunreinigungen durch Sporen anderer Reihen möglichst zu vermeiden: Insbesondere wurden Versuchspflanzen paralleler Reihen in verschiedenen Gewächshäusern aufgestellt, und Kontrollen verschiedener Reihen wurden nie an ein- und demselben Tage ausgeführt.

1. *Uromyces Fabae* (Pers.) Schroeter.

Uromyces Fabae (Pers.) soll nach den Angaben der Floren auf verschiedenen Papilionaceen vorkommen, doch wurden über dessen Spezialisierung bisher nur wenige Versuche ausgeführt. De Bary¹⁾ und Plowright²⁾ erzielten bei gleichzeitiger Infektion von *Vicia Faba* und von *Pisum sativum* auf beiden Pflanzen positive Resultate; letzterer negative Resultate auf *Vicia sativa*, *Vic. Cracca*, *Lathyrus pratensis* und *Vicia hirsuta*. Aus den Versuchen von Ed. Fischer³⁾ ging hervor:

1) daß die Form auf *Vicia Cracca* identisch ist mit derjenigen auf *Pisum sativum*;

2) daß *Lathyrus vernus* und *Lath. montanus*, sowie *Phaseolus vulgaris* und *Faba vulgaris* von derselben nicht befallen werden, was noch der Bestätigung bedarf;

3) falls keine Verunreinigung stattgefunden hat, geht aus dem zweiten Versuche hervor, daß *Uromyces Orobi* nicht eine wiederholte Aecidienbildung besitzt.

Die Form auf *Vicia onobrychioides* wurde von Ed. Fischer als *Uromyces valesiacus* Ed. Fischer von *Uromyces Fabae* (Pers.) abgetrennt, da sie perennierendes Mycel besitzt und dadurch von *Uromyces Fabae* abweicht. Die Form auf *Lathyrus montanus* wird von Plowright als besondere Art: *Uromyces Orobi* (Pers.) Plowr. aufgestellt.

Ich suchte nun der Frage nach der Spezialisierung von *Uromyces Fabae* (Pers.) systematisch nachzugehen und obige Angaben zu prüfen und zu erweitern. Es standen mir zu dem Ende

1) Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. (Annales des sciences naturelles. Botanique. Sér. 4. T. XX. p. 72 ff.)

2) British Uredineae and Ustilagineae. 1889. p. 120 ff.

3) Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bd. I. Heft 1. p. 3 ff.

4 verschiedene Formen zur Verfügung, mit denen die im folgenden beschriebenen Versuche ausgeführt worden sind; es sind dieses nämlich:

- I. Die Form auf *Vicia Faba*.
- II. " " " " *Cracca*.
- III. " " " *Lathyrus montanus*.
- VI. " " " " *vernus*.

I. Versuche mit der Form auf *Vicia Faba*.

Versuchsreihe 1.

Eingeleitet am 8. Mai 1903.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf *Vicia Faba*, die am 15. September 1902 im botan. Garten in Bern gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Vicia Faba*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 4 u. 6. " *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen bei Bern.
- No. 5. *Ervum Ervilia*, aus Samen aus dem bot. Garten Gießen.
- No. 7. *Vicia sepium*, aus Samen aus dem bot. Garten Montpellier.
- No. 8. *Lathyrus vernus*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
- No. 9. " *vernus*, an der Stockern bei Bern im Herbst 1902 ausgegraben.
- No. 10. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen bei Bern ausgegraben.
- No. 11 u. 12. *Pisum sativum*, wie No. 1 u. 2.
- No. 13 u. 14. *Tetragonolobus purpureus*, wie No. 5.

Es wurden folgende Beobachtungen gemacht bei Kontrollen am 22., 23. und 28. Mai und am 9. Juni:

- No. 1. (*Vic. Faba*) zeigt am 22. Mai auf den Oberseiten mehrerer Blätter gelbe Stellen, am 23. Pykniden, am 9. Juni Gruppen von Aecidien, am 16. schöne Uredolager.
- No. 2. (*Vic. Faba*) zeigt am 28. einige Pykniden und am 9. Juni mehrere Gruppen von Aecidien.
- No. 4 u. 6. (*Vic. hirsuta*) blieben pilzfrei.
- No. 5. (*Ervum Erv.*) blieb gesund.
- No. 7. (*Vic. sepium*) blieb gesund.
- No. 8. (*Lath. vern.*) blieb gesund.
- No. 9. (" *vern.*) blieb gesund.
- No. 10. (" *mont.*) blieb gesund.
- No. 11. (*Pisum sativum*) zeigt am 23. Mai gelbe Stellen und am 29. Mai Pykniden.
- No. 12. (*Pisum sativum*) trägt am 29. Mai Pykniden und am 9. Juni 3 Gruppen von offenen Aecidien.

Bei dieser Versuchsreihe erhielten wir somit durch Infektion mit Teleutosporen von *Ur. Fabae* (Pers.), von *Vic. Faba* stammend, Pykniden, Aecidien, Uredolager auf *Vicia Faba* und Pykniden und Aecidien auf *Pisum sativum*. Auf letzterer Pflanze entwickelte sich der Pilz nicht so gut wie auf *Vicia Faba*. Bei den übrigen Versuchspflanzen war kein positives Ergebnis zu beobachten.

Versuchsreihe 2.

Eingeleitet am 25. Mai 1903.

Infektionsmaterial: Wie bei der ersten Versuchsreihe.

Versuchspflanzen:

- No. 1. *Vicia Faba*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 2. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen ausgegraben.
- No. 3. *Pisum sativum*, wie No. 1.

- No. 4. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.
 No. 5. *Lathyrus vernus*, aus Samen aus dem botan. Garten München.
 No. 6. *Tetragonolobus purpureus*, aus Samen aus dem botan. Garten
 Freiburg.
 No. 7. *Vicia sepium*, in der Umgebung von Bern ausgegraben.

Beim Durchsehen der Versuchsreihe konnten folgende Resultate konstatiert werden:

- No. 1. (*Vic. Faba*) zeigte am 9. Juni 2 Gruppen von Pykniden und am 17. einige Aecidien.
 No. 2. (*Lathyr. mont.*) blieb pilzfrei.
 No. 3. (*Pisum sativ.*) trug am 17. Juni 2 oder 3 Pykniden.
 Die Nummern 4 (*Vic. hirs.*), 5 (*Lath. vern.*), 6 (*Tetragonol. purpur.*) und 7 (*Vic. sep.*) blieben gesund, desgleichen die zugehörigen Kontrollpflanzen.

Wir haben hiermit wiederum durch Infektion mit Teleutosporen von *Uromyces Fabae* (Pers.) nur auf *Vicia Faba* und auf *Pisum sativum* positive Resultate erzielt.

Versuchsreihe 3.

Eingeleitet am 9. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Die aus Versuchsreihe 1 erhaltenen Aecidien auf *Vicia Faba*.

Versuchspflanzen:

- No. 1. *Vicia Faba*, wie No. 1 der vorigen Versuchsreihe.
 No. 2. *Pisum sativum*, wie No. 1 der vorigen Versuchsreihe.

Die Kontrollen ergaben auf

No. 1. (*Vic. Faba*) am 22. Juni viele Uredolager; am 29. so viele Uredolager, daß die Blattflächen braun gefärbt waren; am 27. August Teleutosporen.

No. 2. (*Pis. sativ.*) am 23. Juni 3 Uredolager und am 29. viele offene Uredolager.

Bei dieser Versuchsreihe wurden also wieder die gleichen Pflanzen wie bei den 2 ersten Versuchsreihen befallen.

Versuchsreihe 4.

Eingeleitet am 30. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Vic. Faba*, die ich aus Versuchsreihe 3 erhalten hatte.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Vicia Faba*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
 No. 3. " " var. *ogrorum*, aus Samen vom botanischen
 Garten, Bern.
 No. 4 u. 5. *Pisum sativum*, wie die No. 1 u. 2.

Als Resultat ergab sich folgendes:

No. 1 u. 2. (*Vic. Faba*) trugen am 9. Juli viele schöne Uredolager.

No. 3. (*Vic. Faba* var. *ogrorum*) zeigte am 13. mehrere Uredolager.

No. 4 u. 5. (*Pis. sativum*) hatten am 13. einzelne zerstreute Uredolager, die bis zum 15. Juli ziemlich groß geworden waren.

Auch bei dieser Reihe erhielten wir also durch Infektion mit Uredosporen von *Uromyces Fabae* (Pers.) von *Vic. Faba* stammend, positive Resultate auf *Vic. Faba*, *Vic. Faba* var. *ogrorum* und auf *Pisum sativum*. Die Infektion auf *Pisum sativum* war auch hier nicht so kräftig wie auf den übrigen Pflanzen dieser Versuchsreihe.

Das bei dieser Reihe erhaltene Sporenmaterial war so reichlich, daß wir zum Schlusse noch folgenden Infektionsversuch ausführten:

Versuchsreihe 5.

Eingeleitet am 17. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Die aus voriger Versuchsreihe (No. 4) erhaltenen Uredosporen auf *Vicia Faba*.

Versuchspflanzen:

- | | |
|---------------|--|
| No. 1. | <i>Vicia Faba</i> , aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern. |
| No. 2. | <i>Pisum sativum</i> , wie No. 1. |
| No. 3 u. 4. | <i>Vicia Cracca</i> , aus Samen von Haage u. Schmidt, Erfurt. |
| No. 5. | <i>Lathyrus montanus</i> , bei Stettlen ausgegraben. |
| No. 6 u. 7. | „ <i>vernus</i> , aus Samen aus dem bot. Garten München. |
| No. 8. | „ <i>niger</i> , wie No. 6 u. 7. |
| No. 9 u. 10. | <i>Ervum Ervilia</i> , aus Samen von Hohenheim. |
| No. 11 u. 12. | „ <i>Lens</i> , aus Samen vom botanischen Garten, Bern. |
| No. 13. | <i>Vicia villosa</i> , aus Samen von Haage u. Schmidt, Erfurt. |
| No. 14. | „ <i>striata</i> , wie No. 13. |
| No. 15. | „ <i>angustifolia</i> , wie No. 13. |
| No. 16. | „ <i>hirsuta</i> , wie No. 13. |
| No. 17. | „ <i>onobrychioides</i> , aus Samen von Haag. |
| No. 18. | „ <i>sepium</i> , in der Umgebung ausgegraben. |
| No. 19 u. 20. | „ <i>sativa</i> , aus Samen v. d. Stockern. |
| No. 21. | „ <i>onobrychioides</i> , wie No. 13. |
| No. 22. | „ <i>angustifolia</i> , wie No. 13. |
| No. 23. | „ <i>onobrychioides</i> , wie No. 13. |
| No. 24—27. | „ <i>Cracca</i> , wie No. 13. |

Resultat:

- No. 1. (*Vic. Faba*) trug am 1. August Uredosporen.
No. 2. (*Pis. sat.*) ebenfalls.
No. 17 u. 21. (*Vic. onobrych.*) gingen zu Grunde.
Die übrigen Versuchspflanzen blieben pilzfrei.

Durchgehen wir alle Resultate der Versuche mit dem Pilz auf *Vic. Faba*, die auf nebenstehender Tabelle zusammengestellt sind, so finden wir das einheitliche Resultat:

1) *Uromyces Fabae* (Pers.) auf *Vic. Faba* geht auf diese Pflanze, auf *Vicia Faba* var. *ogrorum* und weniger reichlich auch auf *Pisum sativum*.

2) Bei unseren Versuchen ging der Pilz nicht über auf: *Vicia Cracca*, *Vic. villosa*, *Vic. striata*, *Vic. angustifolia*, *Vic. hirsuta*, *Vic. onobrychioides*, *Vic. sepium*, *Vic. sativa*, *Lathyrus montanus*, *Lath. vernus*, *Lath. niger*, *Ervum Ervilia*, *Erv. Lens* und *Tetragonolobus purpureus*.

(Siehe Tabelle auf der folgenden Seite.)

Die positiven Resultate auf *Vicia Faba* und auf *Pisum sativum* bestätigen somit die Ergebnisse der von De Bary und Plowright ausgeführten Versuche. Ebenso stimmen die negativen Resultate von *Vicia hirsuta*, *Vic. sativa* und *Vic. Cracca* (*Lathyrus pratensis* verwendeten wir bei dieser Gruppe von Versuchen nicht) mit denjenigen von Plowright überein.

II. Versuche mit der Form auf *Vicia Cracca*.

Versuchsreihe 6.

Eingeleitet am 23. April 1903.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf *Vicia Cracca*, bei Burgdorf gesammelt.

Tabelle zu den Versuchsreihen 1—5: Spezialisierung von *Ur. Fabae* (Pers.)

Resultate der Versuchsreihen mit <i>Uromyces Fabae</i> (Pers.) auf <i>Vicia Faba</i> .					
Namen der Versuchspflanzen	Ergebnisse und Zahl der verwendeten Töpfe bei Versuchen mit:				
	Teleutosporen		Aecidio- sporen	Uredosporen	
	1	2	3	4	5
Vicia Faba	(2) 2	(1) 1	(1) 1	(2) 2	(1) 1
„ var. ogrorum				(1) 1	
Pisum sativum	(2) 2	(1) 1	(1) 1	(2) 2	(1) 1
Vicia hirsuta	(2) 0	(1) 0			(1) 0
„ sepium	(1) 0	(1) 0			(1) 0
„ Cracca					(6) 0
„ villosa					(1) 0
„ striata					(1) 0
„ angustifolia					(3) 0
„ onobrychioides					(2) 0
„ sativa					(2) 0
Lathyrus vernus	(2) 0	(1) 0			(2) 0
„ montanus	(1) 0	(1) 0			(1) 0
„ niger					(1) 0
Ervum Ervilia	(1) 0				(2) 0
„ Lens					(2) 0
Tetragonolobus purpureus	(2) 0	(1) 0			

NB. Die eingeklammerten Ziffern bedeuten die Zahl der bei der betreffenden Versuchsreihe verwendeten Versuchspflanzen, die nicht in Klammern stehenden die Zahl der Pflanzen, welche ein positives Resultat aufwiesen.

Versuchspflanzen:

No. 1—4. *Lathyrus vernus*, im Herbst 1902 auf der Stockern bei Bern ausgegraben.

No. 5—7. *Vicia sepium*, aus Samen aus dem botan. Garten München.

No. 8—10. „ *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

No. 11—12. „ *Cracca*, wie No. 5—7.

Es wurden folgende Beobachtungen gemacht:

No. 1—4. (*Lat. vern.*) blieben pilzfrei.

No. 5—7. (*Vic. sep.*) ebenfalls.

No. 8. („ *hirs.*) zeigte am 15. Mai Pykniden.

No. 9. („ *hirs.*) zeigte am 20. Mai Pykniden.

No. 10. („ *hirs.*) trug am 26. Mai Pykniden.

No. 11. („ *Cracca*) hatte am 11. Mai Pykniden und am 20. Aecidien; am 8. Juni waren Uredolager bemerkbar.

No. 12. (*Vic. Cracca*) zeigte am 14. Mai Pykniden und am 20. Aecidien; am 8. Juni waren mehrere Uredolager zu beobachten, die mit den Aecidien nicht in direktem Zusammenhange stehen konnten, da sie nicht auf den gleichen Blättern wie die Aecidien, sondern auf tieferliegenden auftraten. Sie müssen also aus einer Neuinfektion durch Aecidiosporen hervorgegangen sein.

Bei dieser Versuchsreihe wurden also mit Teleutosporen von *Uromyces Fabae* (Pers.) von *Vicia Cracca* stammend, auf dieser Pflanze und auf *Vicia hirsuta* positive Resultate erzielt; auf letzterer Papilionacee hat der Pilz jedoch nur Pykniden gebildet.

Versuchsreihe 7.

Eingeleitet am 22. Mai 1903.

Infektionsmaterial: Wie beim vorigen Versuch.

Versuchspflanzen:

- No. 1—14. *Vicia hirsuta*, aus Samen.
No. 15. „ *onobrychiodes*, aus Samen von Haage u. Schmidt.
No. 16. „ *angustifolia*, aus Samen.
No. 17. „ *Faba*, aus Samen aus einer Handlung in Bern.
No. 18 u. 19. *Lathyrus vernus*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
No. 20. „ *luteus*, vom botan. Garten Bern.
No. 21. *Pisum sativum*, wie No. 17.
No. 22. *Ervum Ervilia*, Sämlinge.
No. 23. *Vicia Cracca*, Sämlinge.

Die Kontrollen ergaben folgendes:

Die Nummern 1—3, 5—7, 9 u. 14 (*Vic. hirs.*), ferner die Nummern 15 (*Vic. onobrych.*), 16 (*Vic. ang.*), 17 (*Vic. Faba*), 18 u. 19 (*Lat. vern.*), 20 (*Lat. luteus*) und 22 (*Erv. Ervilia*) blieben pilzfrei.

No. 4 (*Vic. hirs.*) zeigte am 13. Juni Pykniden;

No. 8 und 10—13 ebenso; Aecidien dagegen wurden auf diesen Pflanzen während der ganzen Versuchsdauer nicht beobachtet.

No. 23 (*Vic. Cracca*) hatte am 6. Juni Pykniden, am 13. Aecidien und am 7. Juli schöne Uredolager.

No. 21 (*Pis. sativ.*) zeigte am 27. Juni 3 schöne Uredolager; es können diese entstanden sein durch Infektion mit Aecidiosporen der No. 23 dieser Reihe oder mit Uredosporen der No. 11 u. 12 vom vorigen Versuche; es waren nämlich diese 2 Versuchsreihen im gleichen Isolierhause nebeneinander aufgestellt, so daß eine Uebertragung ganz leicht hätte stattfinden können. Eine fernere Möglichkeit besteht auch darin, daß wir annehmen, auf *Pisum sativum* seien auch Aecidien ausgebildet worden, die unserer Beobachtung entgangen sein konnten, und durch Infektion mit deren Sporen haben sich dann die fraglichen Uredolager entwickeln können. Sei dem wie ihm wolle, so viel steht fest, daß *Pisum sativ.* sich mit *Uromyces Fabae* (Pers.) auf *Vic. Cracca* hat infizieren lassen, was im Einklange steht mit den Resultaten von Ed. Fischer (l. c. p. 3 ff.).

Bei diesem Infektionsversuche erzielten wir also positive Resultate auf *Vicia Cracca*, *Pisum sativum* und ein schwaches Resultat auf *Vicia hirsuta*.

Versuchsreihe 8.

Eingeleitet am 15. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Aecidien auf *Vic. Cracca*, die ich bei Versuchsreihe 6 erhalten hatte.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Vicia Cracca*, Sämlinge.
No. 3 u. 4. „ *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.
No. 5. „ *sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
No. 6. *Lathyrus pratensis*, Sämlinge.

Resultat:

No. 1 u. 2 (*Vic. Crac.*) zeigen am 2. Juli mehrere Uredolager.

Die Nummern 3 u. 4 (*Vic. hirs.*) 5 (*Vic. sat.*) und 6 (*Lat. pratens.*) blieben gesund.

Aecidiosporen vom *Ur. Fabae* (Pers.) auf *Vic. Cracca* gingen somit bei diesem Versuche nur auf diese Pflanze, nicht aber auf *Vic. hirsuta*, *Vic. sativa* und *Lathyrus pratensis*.

Versuchsreihe 9.

Eingeleitet am 23. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Aecidio- und auch etwas Uredosporen von *Vicia Cracca* stammend, die an der Emme bei Burgdorf gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Vicia Cracca*, aus Samen von Haage und Schmidt, Erfurt.
 No. 3. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen im Frühling 1903 ausgegraben.
 No. 4. *Vicia sepium*, wie No. 3.
 No. 5 u. 6. *Vicia Faba*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
 No. 7 u. 8. *Pisum sativum*, wie No. 5 und 6.
 No. 9. *Vicia angustifolia*, Sämlinge.
 No. 10 u. 11. „ *onobrychioides*, aus Samen von Haage und Schmidt, Erfurt.
 No. 12. *Vicia sepium*, wie No. 10 u. 11.
 No. 13. „ *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.
 No. 14. „ *sativa*, wie No. 5 u. 6.
 No. 15. *Ervum Lens*, wie No. 10 u. 11.
 No. 16. *Vicia striata*, wie No. 10 u. 11.

Ich notierte folgende Ergebnisse:

No. 1 (Vic. Crac.) trug am 9. Juli Uredolager.

No. 2 (Vic. Crac.), ein kleines Pflänzchen, blieb gesund. Ferner blieben gesund die Nummern 3–6 und 9–16.

No. 7 u. 8 (Pis. sat.) trugen am 9. Juli Uredolager.

Bei dieser Versuchsreihe erzielten wir also mit Aecidio- resp. Uredosporen, von *Vic. Cracca* stammend, einzig und allein auf *Vicia Cracca* und auf *Pisum sativum* positive Resultate.

Mit diesen Resultaten stimmen überein die Ergebnisse von zwei weiteren Versuchen, die hier nicht einläßlicher beschrieben worden sind.

Tabelle zu den Versuchsreihen 6–9:
Spezialisierung von *Uromyces Fabae* (Pers.).

Resultate der Versuchsreihen mit der Form auf <i>Vicia Cracca</i> .				
Namen der Versuchspflanzen:	Ergebnisse und Zahl der verwendeten Töpfe bei Versuchen mit:			
	Teleutosporen		Aecidio- sporen	Aecidio- und Uredo- sporen
Versuchsreihe:	6	7	8	9
<i>Vicia Cracca</i>	(2) 2	(1) 1	(2) 2	(2) 1
„ <i>hirsuta</i>	(3) 3 ¹	(14) 6 ¹	(2) 0	(1) 0
„ <i>sepium</i>	(3) 0			(2) 0
<i>Lathyrus vernus</i>	(4) 0	(2) 0		
<i>Vicia onobrychioides</i>		(1) 0		(2) 0
„ <i>angustifolia</i>		(1) 0		(1) 0
„ <i>Faba</i>		(1) 0		(2) 0
<i>Lathyrus luteus</i>		(1) 0		
<i>Pisum sativum</i>		(1) 1		(2) 2
<i>Ervum Ervilia</i>		(1) 0		
<i>Vicia sativa</i>			(1) 0	(1) 0
<i>Lathyrus pratensis</i>			(1) 0	
„ <i>montanus</i>				(1) 0
<i>Ervum Lens</i>				(1) 0
<i>Vicia striata</i>				(1) 0

¹ Es wurden nur Pykniden, nicht aber Aecidien ausgebildet.

NB. Die eingeklammerten Ziffern bedeuten die Zahl der bei der betr. Versuchsreihe verwendeten Versuchspflanzen, die nicht in Klammern stehenden die Zahl der Pflanzen, welche ein positives Resultat aufwiesen.

In nebenstehender Tabelle sind die Ergebnisse der Versuche mit dem Pilz auf *Vicia Cracca* zusammengestellt. Man sieht daraus:

1) daß die Sporen dieser Form regelmäßig erfolgreich infizierten: *Vicia Cracca* und *Pisum sativum*, ferner *Vicia hirsuta*, auf der jedoch der Pilz nur zur Pyknidenbildung kam;

2) daß bei unseren Versuchen nicht befallen wurden: *Vicia sepium*, *Vic. onobrychioides*, *Vic. angustifolia*, *Vic. Faba*, *Vic. striata*, *Vic. sativa*, *Lathyrus vernus*, *Lath. luteus*, *Lath. pratensis*, *Lath. montanus*, *Ervum* *Ervilia* und *Erv. Lens*.

Diese Resultate bestätigen die Ergebnisse von Ed. Fischer (l. c. p. 3 ff.), der die Form auf *Vicia Cracca* als identisch erklärt mit derjenigen auf *Pisum sativum*. Wir werden weiter unten beim Vergleichen der Resultate der Versuche mit *Uromyces Fabae* (Pers.) sehen, daß wir bei mehreren Versuchsgruppen Infektionen auf *Pisum sativum* erzielten; daraus darf jedoch nicht etwa der Schluß gezogen werden, alle diese Formen, die auf *Pisum sativum* gehen, seien identisch.

III. Versuche mit der Form auf *Lathyrus montanus*.

Versuchsreihe 10.

Eingeleitet am 29. April 1903.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf *Lathyrus montanus*, die am 13. August 1902 bei Flugbrunnen gesammelt wurden.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen im Frühling 1903 ausgegraben.
No. 3 u. 4. " " bei Stettlen im Herbst 1902 ausgegraben.
No. 5 u. 6. " vernus, aus Samen aus dem botan. Garten München.
No. 7. " " vom botanischen Garten Bern.

Resultat:

- No. 1. (*Lath. mont.*), zeigte am 20. Mai Pykniden in ziemlich großer Zahl, am 26. Mai Aecidien, am 22. Juni Uredolager.
No. 2. (*Lath. mont.*), zeigte am 23. Mai Pykniden, am 26. Mai Aecidien und am 22. Juni Uredolager.
No. 3 u. 4. (*Lath. mont.*), blieben pilzfrei.
No. 5 u. 6. (*Lath. mont.*), und No. 7 (*Lath. vern.*) blieben gesund.

Es gelang uns also, bei dieser Versuchsreihe von 4 verwendeten *Lathyrus montanus* 2 zu infizieren; die *Lathyrus vernus* blieben gesund. Pilzfrei blieben auch die sämtlichen Kontrollpflanzen; ebenso die *Lath. mont.*, von Stettlen stammend, die bei Versuchsreihe No. 1, 2, 5, 9, 15, 16 und 17 verwendet wurden. Mit diesem stimmt die Beobachtung im Freien überein; bei mehreren Kontrollen, die während des Sommers stattfanden, wurden auf *Lath. mont.* bei Stettlen keine Pilzlager bemerkt. Wir dürfen somit annehmen, die bei unseren Versuchen verwendeten *Lath. mont.* seien vor der Infektion pilzfrei gewesen.

Versuchsreihe 11.

Eingeleitet am 8. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Wie bei der vorigen Reihe.

Versuchspflanzen:

- No. 1. *Lathyrus montanus*, im Steinhölzli im Frühling 1903 ausgegraben.
 No. 2. " " und *Lath. pratensis*, wie No. 1.
 No. 3. " *vernus*, wie No. 1.
 No. 4. *Vicia sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
 No. 5. " *Faba*, wie No. 4.
 No. 6. " *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

In meinem Protokoll findet sich folgendes Ergebnis aufgezeichnet:

No. 1. (*Lath. mont.*), zeigt am 22. Juni gelbe Stellen, am 25. Pykniden und Aecidien.

No. 2. (*Lath. mont.*), zeigt am 22. Juni ein Uredolager, am 27. Pykniden und Aecidien (und Uredolager).

Alle übrigen Versuchspflanzen waren gesund, nicht aber die Kontrollpflanzen, d. h. sowohl die in offenen Kasten aufgestellten, in Töpfen gezogenen *Lath. mont.*, wie diejenigen im Steinhölzli am Fundorte meiner No. 1 und 2 (und der Kontrollpflanzen) trugen Uredolager. Ich nehme deshalb an, die Pykniden und Aecidien, welche ungefähr 18 Tage nach ausgeführter Infektion auftreten, seien eine Folge derselben, nicht aber das Uredolager der No. 2, da es vollständig ausgeschlossen ist, daß die Uredosporen aus meiner Infektion mit Teleutosporen entstanden sind; das Uredolager kann somit nur infolge Infektion im Freien entstanden sein.

Somit konnten wir auch bei dieser Versuchsreihe mit Teleutosporen, von *Lath. mont.* stammend, nur diese Pflanze infizieren.

Versuchsreihe 12.

Eingeleitet am 13. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Aecidien auf *Lathyrus montanus*, die oberhalb Flugbrunnen gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Lathyrus montanus*, bei Versuchen mit Urom. Ervi verwendet, wobei sie pilzfrei blieben; stammten von Stettlen.
 No. 3 u. 4. *Lathyrus montanus*, bei Versuchsreihe 6 verwendet, wobei sie pilzfrei blieben.
 No. 5. *Lathyrus luteus*, im botanischen Garten Bern gezogen und vor dem Versuch eingetopft.
 No. 6. *Lathyrus niger*, aus Samen aus dem botan. Garten München.
 No. 7. *Vicia Faba*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
 No. 8. *Pisum sativum*, wie No. 7.
 No. 9. *Lathyrus pratensis*, in der Umgebung ausgegraben, dann eingetopft.
 No. 10. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

Es zeigten sich bei:

No. 1 (*Lath. mont.*) ein Uredolager am 30. Juni und viele Uredolager am 2. Juli.

No. 2 (*Lath. mont.*) am 2. Juli viele Uredolager.

Gesund blieben: No. 3 u. 4 (*Lath. vern.*), No. 5 (*Lath. luteus*), No. 6 (*Lath. nig.*), No. 7 (*Vic. Faba*), No. 8 (*Pis. sat.*), No. 9 (*Lath. prat.*) und No. 10 (*Vicia hirs.*).

Auch bei diesem Versuche konnten wir mit Sporen, von *Lathyrus montanus* stammend, nur diese Pflanze infizieren.

Versuchsreihe 13.

Eingeleitet am 15. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Aecidien und auch etwas Uredosporen auf *Lathyrus montanus* bei Flugbrunnen gesammelt.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen ausgegraben im Frühling 1903.
 No. 3. *Lathyrus vernus*, bei Versuchsreihe 6 verwendet blieb gesund.
 No. 4. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

Die Nummern 1 u. 2 trugen am 30. Juni Uredolager, die übrigen Pflanzen dagegen blieben gesund; also nochmals Uebereinstimmung der Resultate der Versuche mit der Form auf *Lathyrus montanus*.

Alle Kontrollpflanzen blieben während der ganzen Versuchsdauer gesund.

Versuchsreihe 14.

Eingeleitet am 25. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Lathyrus montanus*.

Versuchspflanzen:

No. 1 u. 2. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen ausgegraben.

No. 3 u. 4. „ *vernus*, Sämlinge.

No. 5. „ *pratensis*, im Steinhölzli ausgegraben.

No. 6. *Vicia angustifolia*, Sämlinge.

No. 7. „ *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

Die Nummern 1 u. 2 (*Lath. mont.*) trugen am 8. Juli schöne Uredolager; die übrigen Pflanzen blieben gesund.

Bei einem ferneren Infektionsversuche erzielten wir mit der Form auf *Lathyrus montanus* übereinstimmende Resultate wie bei den besprochenen, deren Ergebnisse in untenstehender Tabelle vereinigt sind.

Tabelle zu den Versuchsreihen 10—14:
Spezialisierung von *Uromyces Fabae* (Pers.).

Resultate der Versuchsreihen mit der Form auf <i>Lathyrus montanus</i>					
Namen der Versuchspflanzen	Ergebnisse und Zahl der verwendeten Töpfe bei Versuchen mit				
	Teleutosporen		Aecidio- sporen	Aecidio- und Uredosporen	Uredosporen
Versuchsreihe:	10	11	12	13	14
<i>Lathyrus montanus</i>	(4) 2	(2) 2	(2) 2	(2) 2	(2) 2
„ <i>vernus</i>	(3) 0	(1) 0	(2) 0	(1) 0	(2) 0
„ <i>pratensis</i>		(1) 0	(1) 0		(1) 0
<i>Vicia sativa</i>		(1) 0			
„ <i>Faba</i>		(1) 0	(1) 0		
„ <i>hirsuta</i>		(1) 0	(1) 0	(1) 0	(1) 0
<i>Lathyrus luteus</i>			(1) 0		
„ <i>niger</i>			(1) 0		
<i>Pisum sativum</i>			(1) 0		
<i>Vicia angustifolia</i>					(1) 0

NB. Die eingeklammerten Ziffern bedeuten die Zahl der bei der betreffenden Versuchsreihe verwendeten Versuchspflanzen, die nicht in Klammern stehenden die Zahl der Pflanzen, welche ein positives Resultat aufwiesen.

Aus obenstehender Zusammenstellung der Resultate der Versuche mit der Form auf *Lathyrus montanus* ergibt sich:

1) daß alle Sporenarten dieses Pilzes *Lathyrus montanus* wieder infizieren;

2) daß bei unseren Versuchen nicht infiziert werden konnten: *Lathyrus vernus*, *Lath. pratensis*, *Lath. luteus*, *Lath. niger*, *Vicia sativa*, *Vic. Faba*, *Vic. hirsuta*, *Vic. angustifolia* und *Pisum sativum*.

Es scheint dieser Pilz biologisch scharf charakterisiert zu sein. Bei Beobachtungen im Freien ist uns ferner das starke Hervortreten der Aecidiosporengeneration aufgefallen; wir konnten reichlich

Aecidien auf *Lath. mont.* beobachten, die gewöhnlich zu großen Gruppen auf Blättern, an Blattstielen und Stengeln vereinigt waren.

IV. Versuche mit der Form auf *Lathyrus vernus*.

Versuchsreihe 15.

Eingeleitet am 1. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Aecidien auf *Lathyrus vernus*, oberhalb Neuenburg gesammelt.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Lathyrus vernus*, aus Samen aus dem botan. Garten München.
- No. 3. „ *montanus*, bei Stettlen ausgegraben.
- No. 4. „ *luteus*, vom botanischen Garten Bern.
- No. 5. „ *niger*, wie No. 1.
- No. 6 u. 7. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.
- No. 8 u. 9. „ *sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 10. „ *sepium*, in der Umgebung von Bern ausgegraben.
- No. 11. „ *onobrychioides*, aus Samen aus dem bot. Garten Paris.
- No. 12. „ *angustifolia*, wie No. 11.

Es wurde folgendes beobachtet:

No. 1 (*Lath. vern.*) verwelkte.

No. 2 (*Lath. vern.*) trägt am 23. Juni mehrere Uredolager.

Die Nummern 3 (*Lath. mont.*), 4 (*Lath. lut.*), 5 (*Lath. niger*), 6 (*Vic. hirs.*), 9 (*Vic. sat.*), 10 (*Vic. sep.*), 11 (*Vic. onobrych.*) und 12 (*Vic. angust.*) blieben gesund.

Die Nummern 7 und 8 gingen zu Grunde.

Es konnte also mit dem Pilz auf *Lath. vernus* bei dieser Versuchsreihe nur auf dieser Pflanze ein positives Resultat erzielt werden.

Versuchsreihe 16.

Eingeleitet am 12. Juni 1903.

Infektionsmaterial: *Uredo* auf *Lathyrus vernus*, die bei Geristein (Bern) gesammelt worden war.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Lathyrus vernus*, bei Versuchsreihe 6 (*Vic. Crac.*) verwendet; hatte dort ein negatives Resultat ergeben.
- No. 3 u. 4. *Lathyrus montanus*, bei Stettlen ausgegraben.
- No. 5. „ *niger*, aus Samen von der Samenkontrollstation.
- No. 6. *Vicia sepium*, Sämling.
- No. 7. „ *sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 8. „ *onobrychioides*, aus Samen von Haage & Schmidt, Erfurt.
- No. 9. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.
- No. 10. „ *Faba*, wie No. 7.
- No. 11. *Pisum sativum*, wie No. 7.

Es zeigte sich, daß

No. 1 u. 2 (*Lath. vern.*) am 29. Juni Uredolager trugen, No. 7 (*Vic. sativ.*) verfaulte und alle übrigen Pflanzen dieser Reihe gesund blieben.

Diese Resultate stimmen somit überein mit den Ergebnissen der vorigen Reihe.

Versuchsreihe 17.

Eingeleitet am 26. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Gleich demjenigen der vorigen Reihe.

Versuchspflanzen:

- No. 1—3. *Lathyrus vernus*, die bei verschiedenen Reihen erfolglos infiziert worden waren.
- No. 4—6. *Lathyrus montanus*, von Stettlen.

- No. 7 u. 8. *Vicia sepium*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
 No. 9. „ *onobrychioides*, aus Samen von Haage & Schmidt.
 No. 10. „ *angustifolia*, wie No. 9.
 No. 11. *Lathyrus pratensis*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
 No. 1 (Lath. vern.) zeigte am 21. Juli Uredolager; die Nummern 2 u. 3 wurden von Schnecken zerfressen; alle übrigen Versuchspflanzen blieben gesund.

Auch diese Resultate stimmen mit denen der beiden vorigen Reihen überein.

Bei unseren Infektionsversuchen mit dem Pilz auf *Lathyrus vernus* erhielten wir:

- 1) auf *Lathyrus vernus* positive Resultate und
- 2) auf *Lathyrus montanus*, *Lath. luteus*, *Lath. niger*, *Vicia hirsuta*, *Vic. sativa*, *Vic. sepium*, *Vic. onobrychioides*, *Vic. angustifolia*, *Vic. Faba* und *Pisum sativum* negative Resultate.

Zusammenfassung der Resultate.

I. Vergleichen wir nun noch die positiven Ergebnisse der 4 mit *Uromyces Fabae* (Pers.) ausgeführten Versuchsgruppen, so erkennen wir, daß jede Form in erster Linie auf die Pflanze leicht wieder übertragen werden kann, auf der sie im Freien lebte. Außerdem gehen die Formen von *Vicia Cracca* und *Vic. Faba* in geringem Maße auf *Pisum sativum* über; wir vermuten dasselbe auch für den Pilz auf *Lath. vernus*, wenigstens erhielten wir bei einem Infektionsversuche, der allerdings nicht ganz einwandfrei und darum nicht beschrieben wurde, ein positives Resultat:

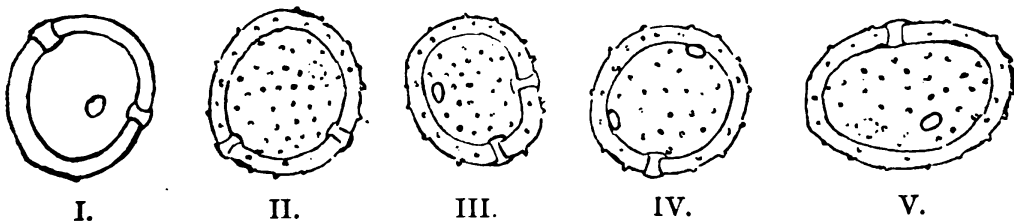
Es erzeugten Teleutosporen der Form von *Lath. vernus* auf *Pisum sativum* kleine Infektionen, die Pykniden zu sein schienen, aber nicht genau untersucht werden konnten.

Wir erhalten somit folgende biologische Formen¹⁾:

- 1) Die Form auf *Vicia Faba* und *Pisum sativum*;
- 2) die Form auf *Vicia Cracca*, *Pisum sativum* und *Vic. hirsuta*;
- 3) die Form auf *Lathyrus montanus*;
- 4) die Form auf *Lathyrus vernus*, die wahrscheinlich auch auf *Pisum sativum* geht.

II. Es fragt sich nun, ob zwischen diesen Formen auch morphologische Unterschiede bestehen. Diesbezügliche Untersuchungen ergaben folgendes:

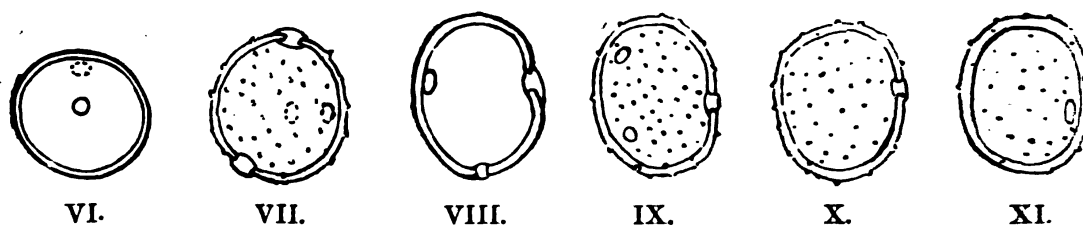
Die Uredosporen der Form auf *Lathyrus montanus* sind konstant dickwandig; es beträgt die Membrandicke 3–4 μ (vergl. Fig. I–V).



Uredosporen von *Uromyces Fabae* (Pers.), von *Lathyrus mont.* stammend.

1) Vergl. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. 1903. p. 777 ff.

Zum Unterschiede mit der Form auf *Lath. montanus* sind die Uredosporen der übrigen biologischen Arten dünnwandig (1,2 bis 2,0 μ) und nur ausnahmsweise wurden Uredosporen mit einer Membrandicke von 2—2,5 μ beobachtet (vergl. Fig. VI—XI).



Uredosporen von *Uromyces Fabae* (Pers.): VI. u. VII. von *Vicia Faba*, VIII u. IX. von *Vicia Cracca*, X. u. XI. von *Lath. vernus* stammend.

Gestützt auf die Ergebnisse unserer Infektionsversuche und unserer mikroskopischen Untersuchungen, erweist sich die Abtrennung der Art auf *Lath. montanus* als *Uromyces Orobi* (Pers.) Plowr., die von Plowright schon früher durchgeführt wurde, als berechtigt.

Die übrigen Formen betrachten wir als biologische Arten unter der bisherigen Bezeichnung: *Uromyces Fabae* (Pers.).

2. *Uromyces Ervi* (Wallr.) Plowr.

Dieser Pilz soll nach Plowright¹⁾ nur auf *Vicia hirsuta* leben und sich durch schwache Bildung von Uredosporen von *Uromyces Fabae* (Pers.) unterscheiden. Ferner hebt Dietel²⁾ hervor, daß *Uromyces Ervi* (Wallr.) Plowr. vom Mai an den ganzen Sommer hindurch, überhaupt solange die Nährpflanze grüne Blätter und Stengel hat, Aecidien bildet, was wohl mit dem Zurücktreten der Uredosporen im Zusammenhange steht. Er führte 2 Infektionsversuche aus, bei denen er tertiäre Aecidien erhielt. Ich fand den Pilz auf *Vicia hirsuta* in der Nähe von Flugbrunnen bei Bern in bester Entwicklung mit vielen Aecidien und auch ziemlich vielen Uredosporen und führte zur Prüfung dieser Verhältnisse folgende Versuche aus:

Versuchsreihe 18.

Eingeleitet am 16. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Aecidien und auch ziemlich viele Uredosporen auf *Vicia hirsuta*, gesammelt am Waldrande bei Flugbrunnen, Bern.

Versuchspflanzen:

- No. 1—4. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.
- No. 5. „ *Faba*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 6. „ *sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 7. *Lathyrus pratensis*, in der Umgebung von Bern ausgegraben.
- No. 8. *Pisum sativum*, wie Nr. 5.
- No. 9. *Ervum Ervilia*, aus Samen aus dem botan. Garten Gießen.

1) British Uredineae and Ustilagineae. 1889. p. 120.

2) Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. III. p. 263.

Es wurde folgendes beobachtet:

Nr. 1—4 (*Vic. hirsuta*) zeigen am 29. Juni zerstreute Aecidien und viele gelbe Stellen; am 5. Juli tragen sie viele schöne, an den Stengeln zu Gruppen vereinigte Aecidien; Uredolager waren keine zu sehen.

Die übrigen Pflanzen, nämlich No. 5 (*Vic. Faba*), No. 6 (*Vic. sativa*), No. 7 (*Lat. pratensis*), No. 8 (*Pis. sativ.*) und No. 9 (*Erv. Ervil.*), blieben gesund. Damit stimmt überein, daß an bezeichneter Stelle im Freien (Flugbrunnen bei Bern) mit den infizierten *Vic. hirsuta* vergesellschaftet waren: *Vicia sepium*, *Astragalus glycyphyllus*, *Onobrychis sativa*, *Medicago lupulina* und *Lathyrus pratensis*, die sich, soweit unsere Beobachtungen reichten, als pilzfrei erwiesen.

Bei dieser Versuchsreihe entstanden somit durch Infektion mit Aecidiosporen von *Uromyces Ervi* (Wallr.) Plowr. wieder Aecidien auf *Vicia hirsuta*; andere Papilionaceen konnten bei diesem Versuche nicht infiziert werden. Die Uredosporen scheinen nicht keimfähig gewesen zu sein; aus der Infektion mit Aecidiosporen scheinen nur Aecidien entstanden zu sein.

Versuchsreihe 19.

Eingeleitet am 8. Juli 1903.

Infektionsmaterial: Die aus voriger Versuchsreihe auf *Vicia hirsuta* erhaltenen Aecidien.

Versuchspflanzen:

No. 1—4. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

No. 5. „ *Faba var. ogorum*, aus Samen vom botan. Garten Bern.

No. 6. „ *sativa*, aus Samen von der Stockern, Bern.

No. 7. *Ervum Ervilia*, Sämlinge.

No. 1—4 (*Vic. hirs.*) trugen am 18. Juli viele offene und geschlossene Aecidien und am 24. Juli ziemlich große, offene Uredolager.

Die übrigen Pflanzen, nämlich No. 5 (*Vicia Faba var. ogorum*), No. 6 (*Vicia sativa*) und No. 7 (*Ervum Ervilia*) blieben gesund. Ebenso erwiesen sich die Kontrollpflanzen während der ganzen Dauer dieses Versuches als pilzfrei und erst Mitte August bemerkte ich, daß auf mehreren *Vicia hirsuta*, die als Kontrollpflanzen dienten und im Freien aufgestellt waren, Aecidien auftraten, die jedoch auf Fremdinfection zurückzuführen sind, da sich die Aecidien auf einmal, auf *Vic. hirsuta* verschiedener Standorte in großer Zahl zeigten.

Auf das Resultat dieser, wie auch auf dasjenige einer folgenden Versuchsreihe, bei der wir aus Aecidio- und Uredosporen der Versuchsreihe 19 wieder Aecidien und auch Teleutosporen erhielten, hat diese Tatsache keinen Einfluß, da sie erst 14 Tage nach Abschluß des letzten Versuches auftrat.

Diese Aecidienversuche bestätigen somit die von Dietel (l. c. p. 263 ff.) experimentell nachgewiesene Aecidienwiederholung; wir erhielten bei unserem 3. Aecidienversuche eine 4. Aecidiengeneration, resp. sogar eine 5., falls wir bei Versuchsreihe 18, für die wir das Sporenmaterial aus dem Freien holten, schon sekundäre Aecidiosporen ausgesät haben.

Es ging bei unseren Versuchen *Uromyces Ervi* (Wallr.) Plowr. nur auf *Vicia hirsuta*, nicht aber auf *Vicia Faba*, *Vic. sativa*, *Pisum sativum*, *Lathyrus pratensis* und *Ervum Ervilia*, in genauer Uebereinstimmung mit den Resultaten von Dietel.

3. *Uromyces Hedysari obscuri* (DC.) Winter.

Dieser Pilz kommt in den Alpen auf *Hedysarum obscurum* häufig vor. Nach Saccardo¹⁾ findet man denselben auch

1) Saccardo, P. A., Sylloge fungorum. Vol. XI. p. 820.

auf *Hedysarum flavescens* und *Hedys. setigum*. Dietel¹⁾ vermutet die Wiederholung der Aecidiengeneration; er sagt darüber:

„ Bei *Uromyces Hedysari obscuri* (DC.) kann man deutlich eine primäre Aecidiengeneration und eine sekundäre unterscheiden. Die erstere ist von Spermogonien begleitet, tritt an den Stengeln, Blattstielen und auf der Unterseite der Blätter in größeren, aus zahlreichen Aecidien gebildeten Gruppen auf und bringt an diesen Pflanzenteilen deutliche Deformationen, oft recht erhebliche Krümmungen hervor. Die sekundären Aecidien dagegen stehen einzeln auf der Oberseite der Blätter, mehr oder weniger gleichmäßig über dieselben zerstreut; sie sind gewöhnlich umgeben von Teleutosporen, welche an denselben Mycelien gebildet werden. Ueberhaupt ist das Auftreten von Teleutosporen an den Mycelien, welche vorher Aecidien gebildet haben oder auch gleichzeitig bilden, eine Eigentümlichkeit, die die meisten dieser uredolosen Arten gemeinsam haben. . . .“

Um die Richtigkeit dieser Darstellung experimentell zu prüfen, wurden folgende Infektionsversuche ausgeführt:

Versuchsreihe 20.

Eingeleitet am 7. Mai 1903.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf *Hedysarum obscurum*, die von Herrn Gymnasiallehrer Wurth im September 1902 a. d. Bernina gesammelt und mir gütigst zur Verfügung gestellt worden waren.

Versuchspflanzen:

No. 1—4. *Hedysarum obscurum*, vom botanischen Garten Bern.

Am 26. Mai zeigen sämtliche Pflanzen dieser Reihe gelbe Flecken.

Am 28. Mai zeigen die Nummern 1, 3 und 4 kreisförmig angeordnete Gruppen von Pykniden; No. 2 hatte mehrere Blätter verloren.

Am 29. Mai zeigen die Nummern 1, 3 und 4 kreisförmig angeordnete Gruppen von Aecidien, die Krümmungen von Blattspindeln und Stengeln verursachten; die No. 3 hat alle Blätter verloren und konnte somit kein Resultat ergeben.

Am 16. Juni trugen die Nummern 1, 3 und 4 viele Teleutolager, die sich auf tiefstehenden, nicht aecidientragenden Blättern gebildet hatten; diese Teleutolager stehen somit nicht direkt mit den Aecidien im Zusammenhange, müssen also aus einer zweiten Infektion mit Aecidiosporen entstanden sein.

Bei dieser Versuchsreihe erhielten wir also durch Infektion mit Teleutosporen Pykniden und Aecidien und durch eine zweite Infektion mit primären Aecidiosporen Teleutosporen auf *Hedysarum obscurum*.

Versuchsreihe 21.

Eingeleitet am 19. Mai 1903.

Infektionsmaterial gleicher Herkunft wie bei Versuchsreihe 20.

Versuchspflanzen:

No. 1—3. *Hedysarum obscurum*, vom botanischen Garten Bern.

No. 4.	„	„	var. minor?	Die Bestimmung dieser Pflanzen ist unsicher; es könnte sich auch um andere Arten handeln.
No. 5.	„	„	var. major?	

Am 26. Mai wurden diese Versuchspflanzen in einem Absonderungshause neben diejenigen der vorigen Versuchsreihe aufgestellt.

No. 1 (*Hedys. obscur.*) starb bald ab.

No. 2 (*Hedys. obscur.*) trug am 16. Juni ein Aecidium ohne Pykniden; am 19. Juni traten zerstreute Teleutosporenlager auf.

1) Flora, Ergänzungsband. 1895. p. 397 u. 398.

No. 3 (*Hedys. obscur.*) zeigte die gleichen Erscheinungen wie No. 2.

No. 4 (*Hedys. obscur. var. minor?*) starb frühzeitig ab.

No. 5 (*Hedys. obscur. var. major?*) trug am 13. Juni ein, am 16. mehrere Aecidien ohne Pykniden; am 19. traten auf tiefer liegenden Blättern zerstreute Teleutosporenlager auf, die also mit den Aecidien nicht in direktem Zusammenhange stehen konnten.

Am 13. Juli bemerkte ich auf allen pilzbefallenen Pflanzen dieser Reihe um die Aecidien ringförmig angeordnete Teleutosporenlager. An diesem Resultat ist auffällig, daß die Aecidien nicht von Pykniden begleitet waren, somit nicht primäre sein konnten. Dieses Ergebnis läßt kaum eine andere Deutung zu als die, daß bei dieser zweiten Versuchsreihe die Infektion mit Teleutosporen erfolglos geblieben, daß aber eine Infektion durch Aecidiosporen der ersten Versuchsreihe erfolgt sei, was ganz gut möglich ist, da diese in jenem Versuche am 29. Mai reif waren. Es ergibt sich daraus ferner, daß die Aecidiosporen imstande sind, teils wieder Aecidien, teils direkt Teleutosporenlager zu bilden; letztere können allerdings auch am Aecidienmycel sekundärer Aecidien entstehen.

Um dieses Resultat vollständig einwandfrei vorlegen zu können, wurde noch ausgeführt:

Versuchsreihe 22.

Eingeleitet am 24. Juli 1903.

Infektionsmaterial: *Hedysarum obscurum* mit primären und möglicherweise auch sekundären Aecidien, da auf älteren Blättern auch Teleutosporenlager zu bemerken waren.

Versuchspflanzen:

Nr. 1—12. *Hedysarum obscurum*, vom botanischen Garten Bern.

Resultat:

No. 1 trägt am 11. August Teleutosporen; diese Pflanze hatte nur alte, derbe Blätter.

No. 2 wie Nr. 1.

No. 3 war und blieb klein, mit nur 3—4 Blättchen; ohne Infektion.

No. 4 trägt am 4. August Aecidien; am 11. Teleutosporenlager ringförmig um die Aecidien angeordnet.

No. 5 zeigt am 4. August gelbe Stellen, am 5. zerstreute Aecidien.

No. 6 wie No. 3.

No. 7 zeigt am 4. August gelbe Stellen, am 5. zerstreute Aecidien und am 7. Teleutolager.

No. 8 hat am 7. August Aecidien und am 11. Teleutosporenlager auf älteren Blättern.

No. 9 zeigt am 4. August gelbe Stellen und am 7. Teleutolager, ebenfalls auf älteren Blättern.

No. 10 zeigt am 4. August ebenfalls gelbe Stellen und am 11. Teleutolager.

No. 11 u. 12 wie No. 3.

Aus diesen Beobachtungen läßt sich schließen, daß aus Sporen der primären Aecidien sekundäre entstehen und sich somit die Aecidien wiederholen können. Die Bildung von Teleutosporen erfordert durchschnittlich 4—6 Tage mehr Zeit als die Bildung von Aecidien. Man bekommt fast den Eindruck, daß vorwiegend auf jüngeren Blättern sekundäre Aecidien, auf älteren aber Teleutosporen entstehen.

Die gleichen Beobachtungen wurden noch bei einer weiteren Versuchsreihe gemacht. Fassen wir die Ergebnisse der Versuche mit *Uromyces Hedysari obscuri* (DC.) kurz zusammen, so erkennen wir daraus die Bestätigung von Dietels¹⁾ Vermutung der Aecidienwiederholung dieses Pilzes. Die Ausbildung sekundärer Aecidien scheint begünstigt zu werden durch das Vorhandensein junger Blätter der Nährpflanze. Aecidiosporen sind imstande, teils

1) l. c. p. 397 u. 398.

wieder Aecidien, teils Teleutosporenlager zu bilden; es können sich auch Teleutosporenlager am Aecidienmycel entwickeln. Uredosporen werden dagegen nicht gebildet.

4. *Uromyces Pisi* (Pers.)

Klebahn¹⁾ säte die Sporen des *Aecidium* auf *Euphorbia Esula* auf mehrere Papilionaceen aus. Er bekam einzig auf *Pisum sativum* positive Resultate; er läßt es dahingestellt, ob dieser Pilz identisch sei mit demjenigen auf *Euphorbia Cyparissias*. Schroeter²⁾ hat durch Aussaat der Aecidiosporen des *Aecidium* auf *Euph. Cyparissias* wiederholt den *Uromyces* auf *Lathyrus pratensis*, *Vicia Cracca* und *Pisum sativum* gezogen.

Um die angebliche Identität der Formen auf diesen wie auf anderen als Nährpflanzen von *Uromyces Pisi* (Pers.) angeführten Papilionaceen auf biologischem Wege festzustellen und einschlägige Fragen zu beantworten, wurden folgende Infektionsversuche angestellt:

Versuchsreihe 23.

Eingeleitet am 30. Mai 1903.

Infektionsmaterial: Aecidien auf einem Exemplar *Euphorbia Cypar.* am Aardamm im Belpmoos gesammelt.

Versuchspflanzen:

- No. 1. *Vicia Cracca*, aus Samen von Ostermündingen.
- No. 2. *Lathyrus pratensis*, aus Samen von Belpmoos.
- No. 3. *Vicia onobrychioides*, aus Samen von Haage u. Schmidt, Erfurt.
- No. 4. „ *Orobus*, aus Samen aus dem bot. Garten Berlin.
- No. 5. „ *sepium*, aus Samen aus dem bot. Garten Hohenheim.

Die Durchsicht der Versuchspflanzen förderte folgende Ergebnisse zu Tage.

No. 1. (*Vic. Cracca*) besaß am 17. Juni ein und am 20. Juni mehrere Uredolager.

No. 2. (*Lath. prat.*) blieb pilzfrei.

No. 3. (*Vic. onobrych.*) war am 17. Juni verfault.

No. 4. (*Vic. Orobus*) und No. 5 (*Vic. sepium*) blieben gesund.

Wir haben somit hier durch Infektion mit Aecidiosporen von Aecidien auf einer *Euphorbia* nur auf *Vicia Cracca* positive Resultate erzielt.

Versuchsreihe 24.

Eingeleitet am 2. Juli 1903.

Infektionsmaterial gleicher Herkunft wie bei der vorigen Versuchsreihe.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Vicia Cracca*, aus Samen von Haage u. Schmidt, Erfurt.
- No. 3 u. 4. *Lathyrus pratensis*, aus Samen aus dem bot. Garten Zürich.
- No. 5. *Lotus corniculatus*, aus Samen aus dem bot. Garten Zürich.
- No. 6. *Medicago sativa*, aus Samen aus dem bot. Garten Zürich.
- No. 7. *Vicia angustifolia*, aus Samen von Haage u. Schmidt, Erfurt.
- No. 8. „ *hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

Es wurden folgende Resultate beobachtet:

No. 1. (*Vicia Cracca*) zeigt am 14. Juli auf einigen Blättern gelbe Stellen und am 15. Uredolager.

1) Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. II. p. 335.

2) Schroeter, J., Pilze. p. 306.

No. 2. (*Vicia Cracca*) trägt am 14. Juli wenige und am 15. mehrere Uredolager.

Die Nummern 3 u. 4 (*Lath. prat.*), No. 5. (*Lath. cornic.*), No. 6. (*Medic. sat.*), No. 7. (*Vic. ang.*) und No. 8. (*Vic. hirsuta*) blieben gesund.

Dieses Resultat bestätigt dasjenige der vorigen Versuchsreihe: Mit Aecidiosporen von einer *Euphorbia* stammend, konnte einzig und allein *Vicia Cracca* infiziert werden. Diese Ergebnisse, welche entschieden auf eine Spezialisierung von *Uromyces Pisi* (Pers.) hindeuten, werden durch einen Infektionsversuch, der mit Uredosporen ausgeführt wurde, bestärkt:

Versuchsreihe 25.

Eingeleitet am 19. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Lathyrus pratensis*, gesammelt am Waldrande bei Hofen, Wohlen.

Versuchspflanzen:

No. 1 u. 2. *Lathyrus pratensis*, Sämlinge.

No. 3 u. 4. *Vicia Cracca*, aus Samen von Ostermundigen.

No. 5. *Lathyrus niger* Bernh., aus Samen aus dem bot. Garten München.

No. 6. *Vicia hirsuta*, aus Samen von Flugbrunnen.

No. 7. „*onobrychioides*, aus Samen von Haag u. Schmidt, Erfurt.

No. 8. *Vicia sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.

No. 9. *Pisum sativum*, wie No. 8.

Die Kontrollen ergaben bei

No. 1 u. 2. (*Lathyrus pratensis*) am 4. Juli einzelne, am 11. viele Uredolager.

No. 3 u. 4. (*Vic. Cracca*) blieben gesund.

Ebenso die No. 5. (*Lath. niger*), No. 6. (*Vic. hirs.*), No. 7. (*Vic. onobrych.*) und No. 8. (*Vic. sativa*.)

No. 9. (*Pisum sativum*) hatte am 15. Juli einige große Uredolager.

Bei diesem Versuche gelang es uns also, mit Uredosporen vom Typus des *Uromyces Pisi* (Pers.) von *Lathyrus pratensis* stammend, diese Pflanze selbst und auch *Pisum sativum* zu infizieren.

Ganz besonders heben wir das Gesundbleiben der beiden *Vicia Cracca* hervor, da diese Pflanze bei den zwei vorigen Versuchsreihen befallen wurde. Auch dieses Resultat bestärkt uns in der Annahme, die Formen von *Uromyces Pisi* (Pers.) auf *Lathyrus pratensis* und *Vicia Cracca* seien biologische Arten; konstante morphologische Unterschiede der Teleuto- und Uredosporen konnten nämlich nicht konstatiert werden.

Was das Verhalten von *Pisum sativum* betrifft, so verweisen wir auf die Ergebnisse der Infektionsversuche mit *Uromyces Fabae* (Pers.), bei denen *Pisum sativum* von verschiedenen biologischen Arten befallen wurde. Das positive Resultat mit dieser Pflanze bei Versuchsreihe 25 kann als Bestätigung der Versuche von Schroeter aufgefaßt werden, der allerdings mit Aecidiosporen vom *Uromyces Pisi* (Pers.), diesen Pilz auf *Pisum sativum* gezogen hat.

5. *Uromyces Astragali* (Opiz).

Winter¹⁾ vereinigte mehrere *Hemiuromyces*, die auf

1) l. c. p. 147.

Papilionaceen vorkommen, zu einer Art: *Uromyces Genistae tinctoriae* (Pers.), da er nicht im stande war, für die in Betracht kommenden Formen konstante Unterschiede zu finden. Schroeter¹⁾ hingegen zerlegte den *Uromyces Genistae tinctoriae* (Pers.) wieder in 3 Arten:

Uromyces Astragali (Opiz),
 „ *Genistae* (Pers.),
 „ *Anthyllidis* (Grev.).

Mit dem gleichen Rechte können als besondere Arten ferner abgetrennt werden:

Uromyces Onobrychidis Lév. (Desm.) und
 „ *Ononidis* (Pass.),

die durch die Skulptur der Teleutosporen von den 3 ersten verschieden sind. Diese Trennung ist aber mit Schwierigkeiten verbunden, da Uebergänge vorkommen. Ebenfalls nur provisorisch ist die Zuteilung dieser Formen zu den *Hemiuromyces*, da ihr Entwicklungsgang bisher noch nicht bekannt ist. Im folgenden soll speziell von *Uromyces Astragali* (Opiz) die Rede sein, dessen Uredo- und Teleutosporen auf verschiedenen *Astragalus*-, *Phaca*- und *Oxytropis*-Arten beobachtet wurden, dessen Aecidien und Pykniden aber bis dahin nicht bekannt waren. Allerdings gibt Winter²⁾ an, er habe auf *Oxytropis campestris* und *Phaca alpina* junge Aecidien beobachtet; die Zugehörigkeit derselben bleibt aber zweifelhaft und die Möglichkeit, daß es sich nach Analogie von *Uromyces Pisi* (Pers.) um heteröcische Arten oder vielleicht auch um *Brachyuromyces* handelt, ist nicht ausgeschlossen.

Auf einer Exkursion im Herbst 1902 fand ich auf der oberen Oeschinenalp ca. 2100 m über Meer auf dem Wege zum Hohthürli im Berner Oberland *Oxytropis montana*, *Ox. campestris* und *Lotus corniculatus* mit Uredo- und Teleutosporenlagern vom Typus des *Uromyces Astragali* (Opiz) besetzt. Dieser Fund regte mich an, die gleiche Stelle im folgenden Frühjahr einer gründlichen Untersuchung zu unterwerfen, um Anhaltspunkte bezüglich des Entwicklungsganges dieses Pilzes zu gewinnen; denn wir konnten annehmen, daß zu diesen Uredo- und Teleutosporen eine Aecidiengeneration gehören müsse, die entweder auf anderen oder auf den gleichen Pflanzen vorkommt; eine dritte Möglichkeit bestand darin, daß man im Frühling Pykniden auf den uredotragenden Nährpflanzen finden würde, für den Fall, daß es sich um Brachyformen handeln sollte.

Beim Aufsuchen der bezeichneten Stelle am 4. Juli 1903 fand ich nun in unmittelbarer Nähe der in Rede stehenden Papilionaceen *Euphorbia Cyparissias* mit deformierten Sprossen ganz nach Art des *Uromyces Pisi* (Pers.), welche von Pykniden und Aecidien dicht besetzt waren. Auf den Papilionaceen konnte ich dagegen weder Pykniden noch Aecidien beobachten. Es legte dies den Gedanken sehr nahe, daß der Pilz auf *Oxytropis*

1) l. c. p. 308.

2) Mykologisches aus Graubünden. (Hedwigia. 1880. p. 139 ff. 159 ff. 173 ff.)

montana, *O. campestris* und *Lotus corniculatus* seine Pykniden und Aecidien auf *Euphorbia Cyparissias* ausbildet. Zur Prüfung dieser Frage wurden nun folgende Versuche eingeleitet:

Versuchsreihe 26.

Eingeleitet am 5. Juli 1903.

Infektionsmaterial: Aecidienbefallene Triebe mehrerer *Euphorbia Cyparissias* von genannter Stelle.

Versuchspflanzen:

- | | | |
|-------------------|-----------------------------|--|
| No. 1 u. 2. | <i>Oxytropis montana</i> | } wurden im botanischen Garten zu Bern gezogen und eingetopft. |
| No. 3 u. 4. | „ <i>campestris</i> | |
| No. 5. | „ <i>glabra</i> | aus Samen aus dem bot. Garten Edinburgh. |
| No. 6. | <i>Coronilla varia</i> | aus Samen aus dem bot. Garten München. |
| No. 7 u. 8. | „ <i>vaginalis</i> | Sämlinge. |
| No. 9. | <i>Anthyllis montana</i> | wie No. 1—4. |
| No. 10, 11 u. 17. | <i>Lotus corniculatus</i> | Sämlinge. |
| No. 12. | <i>Vicia Cracca</i> | Sämlinge. |
| No. 13 u. 14. | <i>Hippocrepis comosa</i> | am Oeschinensee 1902 ausgegraben und eingetopft. |
| No. 15 u. 16. | <i>Anthyllis Vulneraria</i> | aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern. |
| No. 18. | <i>Coronilla montana</i> | Sämlinge. |
| No. 19. | <i>Medicago lupulina</i> | Sämlinge. |

Am 17., 18., 20. und 24. Juli wurden die Pflanzen durchgesehen und folgende Resultate notiert:

No. 1. (*Ox. mont.*) zeigte am 18. Juli auf einigen Blättern zerstreute Uredolager.

No. 2. (*Ox. mont.*) hatte schon am 17. Uredolager.

No. 3 u. 4. (*Ox. camp.*) wiesen am 20. Juli nur wenige Uredolager auf.

No. 5. (*Ox. glabra*) besaß schon am 17. mehrere schön entwickelte Uredolager.

Die Nummern 6—9, 12—16, 18 und 19 waren gut entwickelt und blieben während der ganzen Dauer des Versuches pilzfrei.

Die Nummern 10, 11 und 17 (*Lotus corniculatus*) wurden auffällig stark von Schnecken zerfressen.

Es erwiesen sich ferner alle Kontrollpflanzen als pilzfrei; bemerkt sei einzig, daß in einem benachbarten Gewächshause während der Durchführung dieses Versuches die Pflanzen eines Uredoversuches (Versuchsreihe No. 32 mit Uredosporen auf *Astrag. glycyphyllus*) aufgestellt waren, so daß eine Verschleppung der Sporen durch Gärtner oder Publikum nicht völlig ausgeschlossen ist. Die Resultate dieser Versuchsreihe wiederholten sich jedoch auch in mehreren anderen Versuchen, so daß wir diese Befürchtung können fallen lassen.

Aus diesem Versuche ergibt sich, daß *Uromyces Astragali* (Opiz) in der Tat heteröcisch ist: Die Aecidiengeneration lebt auf *Euphorbia Cyparissias*, die Uredo- und Teleutogeneration wurde bei dieser Versuchsreihe auf *Oxytropis montana*, *Ox. campestris* und *Ox. glabra* ausgebildet.

Versuchsreihe 27.

Eingeleitet am 6. Juli 1903.

Infektionsmaterial: wie bei der vorigen Versuchsreihe.

Versuchspflanzen:

- | | | |
|---------------|---------------------------|---|
| No. 1—3 u. 7. | <i>Oxytropis montana</i> | } im botanischen Garten Bern gezogen und vor der Verwendung eingetopft. |
| No. 4—6. | „ <i>campestris</i> | |
| No. 8 u. 9. | <i>Vicia Cracca</i> | Sämlinge. |
| No. 10—12. | <i>Ervum Lens</i> | Sämlinge. |
| No. 13 u. 14. | <i>Lotus corniculatus</i> | Sämlinge. |
| No. 15 u. 16. | <i>Medicago lupulina</i> | im Herbst 1902 bei Bern ausgegraben. |
| No. 17—19. | <i>Medicago sativa</i> | aus Samen aus dem bot. Garten Montpellier. |

- No. 20. *Lathyrus pratensis*, aus Samen aus dem botan. Garten Antwerpen.
 No. 21—23. *Cytisus Laburnum*, im botanischen Garten Bern ausgegraben.

Es fanden am 17., 18., 20. und 24. Juli, ferner am 1. und 13. August Kontrollen statt und dabei wurde folgendes beobachtet:

- No. 1 u. 2 (*Oxyt. montana*) zeigten am 18. Juli Uredosporenlager.
 No. 3 (*Oxyt. montana*) zeigte schon am 17. Juli 2 Uredolager.
 No. 4 (*Oxyt. campestris*) trug am 20. Juli Uredolager.
 No. 5 (*Oxyt. campestris*) blieb gesund.
 No. 6 (*Oxyt. campestris*) hatte erst am 1. August 3 Sporenlager, die auch aus Sporen von No. 3 entstanden sein können.
 No. 7 (*Oxyt. montana*) war am 1. August verfault.
 No. 8 (*Vicia Cracca*) war schon am 24. Juli verfault.
 No. 9 (*Vicia Cracca*) blieb gesund.
 No. 10—12 (*Ervum Lens*) waren am 24. Juli verfault.
 No. 13 u. 14 (*Lotus cornicul.*) trugen am 20. Juli Uredo- und am 13. August Teleutosporenlager und zwar blattunterseits.

Die Nummern 15 u. 16 (*Medic. lupul.*), 17—19 (*Medic. sativa*), 20 (*Lathyr. prat.*) und 21—23 (*Cytisus Laburnum*) blieben während der ganzen Dauer des Versuches gesund.

Die Resultate dieser Versuchsreihe bestätigen diejenigen der vorangehenden; sie ergeben ferner, daß der Pilz auf *Lotus corniculatus* seine Aecidiengeneration ebenfalls auf *Euphorbia Cyparissias* ausbildet.

Versuchsreihe 28.

Eingeleitet am 9. Juli 1903.

Infektionsmaterial: Aecidiosporen gleicher Herkunft wie bei Versuchsreihen 26 u. 27.

Versuchspflanzen:

- No. 1. *Oxytropis montana*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 2. „ *campestris*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 3. *Vicia Cracca*, aus Samen von Haage & Schmidt, Erfurt.
 No. 4. *Lathyrus pratensis*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
 No. 5. *Lotus corniculatus*, Sämlinge.
 No. 6 u. 7. *Astragalus glycyphylus*, aus Samen aus dem botan. Garten München.
 No. 8 u. 9. *Medicago sativa*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.

Resultat:

- No. 1 (*Oxytropis montana*) zeigte am 1. August mehrere Uredolager.
 No. 2 (*Oxytropis campestris*) am gleichen Tage wenige, zerstreute Uredolager.

Vicia Cracca, *Lathyrus pratensis*, *Lotus corniculatus* und *Medicago sativa* blieben während des ganzen Versuches pilzfrei.

No. 6 und 7 (*Astragal. glycyph.*) zeigten schon am 22. Juli mehrere schöne Uredolager. Die Kontrollpflanzen erwiesen sich als gesund.

Im Gegensatz zur vorangehenden Versuchsreihe blieb bei dieser Versuchsreihe *Lotus corniculatus* gesund. Als Ergebnis dieser Versuchsreihe fasse ich zusammen: Die Formen auf *Astragalus glycyphylus* wie in Uebereinstimmung mit den Resultaten der vorigen Reihen diejenigen auf *Oxytropis montana* und *Oxyt. campestris* sind heteröcisch; ihre Aecidiengeneration wird auf *Euphorbia Cyparissias* ausgebildet.

Versuchsreihe 29.

Mit Aecidiensporen-Infektionsmaterial, das am schon erwähnten Standort am 21. Juli 1903 geholt worden war, wurden am 22. Juli besät:

- No. 1. *Coronilla varia*, aus Samen aus dem botan. Garten München.
 No. 2. „ *vaginalis*, aus Samen aus dem botan. Garten Zürich.

- No. 3 u. 4. *Oxytropis montana*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 5. „ *campestris*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 6. *Astragalus depressus*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 7. *Coronilla coronata*, aus Samen aus dem bot. Garten Christiania.
 No. 8. *Lotus corniculatus*, in der Umgebung von Bern ausgegraben,
 dann eingetopft.
 No. 9. *Oxytropis glabra*, aus Samen aus dem botan. Garten Edinburgh.

Die Pflanzen dieser Versuchsreihe wurden in einem kleinen Glaskasten aufgestellt; daselbst litten sie stark von der Hitze und die Nummern 4 und 5 und später auch die Nummern 6 und 8 gingen zu Grunde.

No. 3 (*Oxytropis montana*) zeigte am 4. August Uredosporenlager.

No. 6 (*Astragalus depressus*) und

No. 9 (*Oxytropis glabra*) trugen ebenfalls am 4. August Sporenlager; die erstere nur 3 kleine Lager, die letztere dagegen erwies sich bei diesem, wie auch bei allen anderen Versuchen, bei denen *Oxytropis glabra* verwendet wurde, als sehr empfänglich. Die Sporenlager auf *O. glabra* waren zahlreich, von einem Durchmesser bis zu 2 mm. Am 13. August war No. 6 (*Astrag. depress.*) dürr; seine Sporenlager waren klein, von geringem Durchmesser.

No. 1 (*Coronilla varia*), ferner

No. 2 („ *vaginalis*) und

No. 7 („ *coronata*) blieben vollständig gesund, ebenso die sämtlichen zugehörigen Kontrollpflanzen.

Wir können daher als Versuchsergebnis zusammenfassen:

Mit den Sporen von Aecidien auf *Euphorbia Cyparissias* können nicht nur *Oxytropis montana* und *O. glabra* und nach den Ergebnissen der vorigen Reihen *O. campestris*, *Astragalus glycyphyllus* und *Lotus corniculatus* mit positivem Resultat infiziert werden, sondern auch *Astragalus depressus*.

Versuchsreihe 30.

Zu gleicher Zeit wie die Versuchsreihe 29 wurden noch folgende Pflanzen mit Infektionsmaterial von der gleichen Herkunft wie bei vorigem Versuche besät:

- No. 1. *Oxytropis campestris*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 2 u. 3. „ *montana*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 4 u. 5. „ *glabra*, aus Samen aus dem bot. Garten Edinburgh.
 No. 6. „ *lapponica*, aus Samen aus dem botan. Garten Petersburg.
 No. 7 u. 8. *Coronilla varia*, aus Samen aus dem botan. Garten München.
 No. 9 u. 10. „ *vaginalis*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 11 u. 13. „ *coronata*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 13. *Vicia cracca*, aus Samen von Haage & Schmidt, Erfurt.
 No. 14. *Lotus corniculatus*, aus Samen von München.

Am 3. August wurden sämtliche Versuchspflanzen kontrolliert und es zeigte sich, daß

No. 1 (*Oxytrop. campestr.*) schwach befallen war,

No. 2 u. 3 (*Oxytrop. montana*) mehrere Uredolager trugen,

No. 4 u. 5 (*Oxytrop. glabra*) zahlreiche Sporenlager hatten, die sich zu großen Uredopusteln entwickelten, und

No. 6 (*Oxytrop. lapponica*) ebenfalls infiziert war.

Am 5. August war No. 10 (*Coronilla vaginalis*) dürr; am 13. hatten die Nummern 4 u. 5 (*O. glabra*) Teleutosporen gebildet und am 27. die Nummern 2 u. 3 (*O. montana*) ebenfalls.

Als gesund erwiesen sich die Pflanzen mit den Nummern 7—14 (also auch *Lotus corniculatus*) und ebenso sämtliche Kontrollpflanzen.

Wir konnten bei dieser Versuchsreihe somit erfolgreich infizieren: *Oxytropis campestris*, *O. montana*, *O. glabra* und *O. lapponica*.

Versuchsreihe 31.

Eingeleitet am 23. Juli 1903.

Infektionsmaterial: Aecidiosporen aecidienbefallener Triebe mehrerer *Euphorbia* *Cyparissias*, von gleicher Herkunft wie das Infektionsmaterial, das bei Versuchsreihe 29 verwendet wurde.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Oxytropis montana*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 3. „ *campestris*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 4. „ „ *var. sordida*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 5 u. 6. *Oxytropis Purshiana*, aus Samen aus dem bot. Garten Kew.
 No. 7 u. 8. „ *glabra*, aus Samen aus dem bot. Garten Edinburgh.
 No. 9. *Astragalus glycyphyllos*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
 No. 10 u. 11. „ „ vom botanischen Garten Bern.
 No. 12. „ *depressus*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 13. *Hippocrepis comosa*, bei Kandersteg ausgegraben.
 No. 14 u. 15. *Coronilla varia*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
 No. 16 u. 17. „ *vaginalis*, beim Oeschinensee ausgegraben.
 No. 18—20. „ *coronata*, vom botanischen Garten Bern.
 No. 21 u. 22. *Cytisus Laburnum*, im botan. Garten Bern ausgegraben.
 No. 23. *Genista tinctoria*, aus Samen aus dem bot. Garten Göttingen.
 No. 24. „ „ aus Samen aus dem bot. Garten Zürich.
 No. 25. *Vicia Cracca*, aus Samen von Ostermündingen.
 No. 26. *Lathyrus pratensis*, aus Samen von der Umgebung Berna.
 No. 27. *Anthyllis Vulneraria*, aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.

Resultat:

- No. 1 u. 2 (*Oxytrop. mont.*) haben am 3. August Uredo- und am 13. August Teleutosporen.
 No. 3 u. 4 (*Oxytrop. camp.*), die kurz vor dem Einleiten dieses Versuches eingetopft wurden, waren am 6. August vollständig dürr.
 No. 5 u. 6 (*Oxytr. Purshiana*) blieben gesund.
 No. 7 u. 8 („ *glabra*) zeigten am 6. August Uredolager.
 No. 9 (*Astragal. glycyph.*) hatte am 6. August Uredo- und am 13. Teleutosporen.
 No. 10 u. 11 (*Astragal. glycyph.*) wie No. 9.
 No. 12 (*Astragal. depressus*) hatte am 3. August Uredolager.
 Alle übrigen Pflanzen, nämlich No. 13 (*Hippocrep. com.*), No. 14 u. 15 (*Coronilla varia*), No. 16 u. 17 (*Coronilla vagin.*), No. 18—20 (*Coronilla coron.*), No. 21 u. 22 (*Cytisus Laburn.*), No. 23 u. 24 (*Genista tinctoria*), No. 25 (*Vic. Cracca*), No. 26 (*Lath. pratensis*) und No. 27 (*Anthyllis Vulner.*), blieben beständig gesund.

Fassen wir die Resultate sämtlicher Aecidienversuche zusammen, so ergibt sich, daß der auf *Oxytropis montana*, *Oxytrop. campestris*, *Oxytrop. glabra*, *Oxytrop. lapponica*, *Astragalus glycyphyllos*, *Astragal. depressus* und *Lotus corniculatus* lebende *Uromyces* vom Typus des *Uromyces Astragali* (Opiz) heteröcisch ist, daß seine Aecidien auf *Euphorbia Cyparissias* leben und die Sprosse derselben in analoger Weise wie *Uromyces Pisi* (Pers.) deformieren.

(Siehe Tabelle auf folgender Seite.)

In nebenstehender Tabelle sind die Ergebnisse der Aecidienversuche von *Uromyces Astragali* (Opiz) übersichtlich zusammengestellt. Aus dieser Tabelle ergibt sich ferner, daß diese heteröcischen Formen nicht gehen auf:

Genista tinctoria, *Cytisus Laburnum*, *Lathyrus pratensis*, *Medicago sativa*, *Ervum Lens*, *Medicago*

Tabelle zu den Versuchsreihen 26—31.

Namen der Versuchspflanzen	Infektionsmaterial: Aecidiosporen mehrerer Aecidien - tragender Euphorbia cyparissias- Sprosse					
	26	27	28	29	30	31
<i>Oxytropis montana</i>	(2) 2	(4) 3	(1) 1	(2) 1	(2) 2	(2) 2
„ <i>campestris</i>	(2) 2	(3) 1	(1) 1	(1) 0	(1) 1	(1) 0
„ <i>glabra</i>	(1) 1			(1) 1	(2) 2	(2) 2
„ <i>lapponica</i>					(1) 1	
„ <i>campest. var. sordida</i>						(1) 0
„ <i>Purshiana</i>						(2) 0
<i>Coronilla varia</i>	(1) 0			(1) 0	(2) 0	(2) 0
„ <i>vaginalis</i>	(2) 0			(1) 0	(2) 0	(2) 0
„ <i>coronata</i>				(1) 0	(2) 0	(3) 0
„ <i>montana</i>	(1) 0					
<i>Lotus corniculatus</i>	(3) 0	(2) 2	(1) 0	(1) 0	(1) 0	
<i>Anthyllis montana</i>	(1) 0					
„ <i>Vulneraria</i>	(2) 0					(1) 0
<i>Vicia Cracca</i>	(1) 0	(2) 0	(1) 0		(1) 0	(1) 0
<i>Hippocrepis comosa</i>	(2) 0					(1) 0
<i>Medicago lupulina</i>	(1) 0	(2) 0				
<i>Ervum Lens</i>		(3) 0				
<i>Medicago sativa</i>		(3) 0	(2) 0			
<i>Lathyrus pratensis</i>		(1) 0	(1) 0			(1) 0
<i>Cytisus Laburnum</i>		(3) 0				(2) 0
<i>Astragalus depressus</i>				(1) 1		(1) 1
„ <i>glycyphyllus</i>			(2) 2			(3) 3
<i>Genista tinctoria</i>						(2) 0

NB. Die eingeklammerten Ziffern bedeuten die Zahl der verwendeten Versuchspflanzen bei der betreffenden Versuchsreihe, die nicht in Klammern stehen, die Zahl der Pflanzen, welche ein positives Resultat aufwiesen.

lupulina, *Hippocrepis comosa*, *Vicia Cracca*, *Anthyllis Vulneraria*, *Anth. montana*, *Coronilla varia*, *Cor. vaginalis*, *Cor. coronata*, *Cor. montana* und *Oxytropis Purshiana*.

Vergleicht man nun aber noch die positiven Versuchsergebnisse untereinander, so geht daraus hervor, daß die verwendeten Pflanzen ungleich befallen wurden: *Oxytropis campestris*, die uns allerdings nicht immer in geeigneten Exemplaren zur Verfügung stand, wurde bedeutend schwächer befallen als *Oxytropis montana* oder *Oxytropis glabra*, für die der Pilz eine besondere Vorliebe zu haben scheint. Ferner fällt uns bei der Betrachtung unserer Resultate auf, daß *Lotus corniculatus* nur bei einer Versuchsreihe (27), allerdings in starker Weise, befallen wurde; bei Versuchsreihe 26 wurden sämtliche 3 *Lot. corniculat.* auffällig stark von Schnecken zerfressen; bei Versuchsreihe 29 ging das einzig verwendete Exemplar dieser Pflanze infolge der Hitze, wie sie in den Treibhäusern manchmal herrschte, zu Grunde; bei den Versuchsreihen 28 und 30 blieb *Lotus corniculatus* ohne Infektion, obwohl diese Pflanzen frisch und kräftig waren.

Das ungleiche Verhalten von *Lotus corniculatus* bei

den verschiedenen Versuchsreihen, ganz besonders aber die verhältnismäßig große Zahl von Species, die mit Aecidien auf Euphorbien von einem Standorte infiziert werden konnten, drängen uns die Frage auf: Haben wir bei den beschriebenen Versuchen Aeci-diensporen nur von einem Typus verwendet, d. h. sind die Formen auf *Oxytropis montana*, *O. campestris*, *O. glabra*, *O. lapponica*, *Astragalus glycyphyllos*, *Astrag. depressus* und *Lotus corniculatus* identisch oder nicht? Infektionsversuche, bei denen mit Uredosporen infiziert wurde, sowie mikroskopische Untersuchungen tragen zur Beantwortung dieser Fragen wesentlich bei. Schon bevor der Nachweis geleistet worden war, daß *Ur. Astragali* (Opiz) heteröcisch ist, wurden nachfolgende Versuche mit Uredosporen, die von *Astragalus glycyphyllos* resp. von *Oxytropis glabra* stammten, eingeleitet:

Versuchsreihe 32.

Eingeleitet am 19. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Astragalus glycyphyllos*, gesammelt am Waldrande bei Hofen, Bern.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Astragalus glycyphyllos*, an der Stockern bei Bern 1902 ausgegraben.
- No. 3 u. 4. *Astragalus glycyphyllos*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
- No. 5. *Astragalus cicer*, Sämlinge.
- No. 6. *Oxytropis montana*, vom botanischen Garten Bern.
- No. 7. „ *campestris*, vom botanischen Garten Bern.
- No. 8 u. 9. „ *Purshiana*, aus Samen aus dem bot. Garten Kew.
- No. 10 u. 11. „ *glabra*, aus Samen aus dem bot. Garten Edinburgh.

Diese Versuchspflanzen wurden am 30. Juni, am 15. Juli und am 13. August durchmustert. Es zeigte sich folgendes:

Die Nummern 1—4 (*Astrag. glycyph.*) hatten am 30. Juni schöne Uredolager; am 13. August Teleutosporen.

No. 5 (*Astrag. cicer*) war beständig gesund.

No. 6 (*Oxytrop. mont.*) zeigte am 15. Juli mehrere große Uredolager.

No. 7 (*Oxytr. camp.*) blieb pilzfrei.

No. 8 u. 9 (*Oxytr. Purshiana*) ebenfalls.

No. 10 u. 11 (*Oxytr. glabra*) hatte am 30. Juni schöne Uredolager.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich somit, daß die Formen des *Ur. Astragali* (Opiz) auf *Astragalus glycyphyllos*, *Oxytropis montana* und *O. glabra* identisch sind; *O. campestris* scheint auch für Uredosporen widerstandsfähig zu sein. Teilweise Bestätigung dieser Resultate ergibt sich aus

Versuchsreihe 33.

Eingeleitet am 11. Juli 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf *Oxytropis glabra*, die aus dem vorangehenden Infektionsversuche (Nr. 32) erhalten wurden.

Versuchspflanzen:

- No. 1 u. 2. *Astragalus glycyphyllos*, aus Samen aus dem bot. Garten München.
- No. 3 u. 4. *Oxytropis glabra*, aus Samen aus dem bot. Edinburgh.
- No. 5. *Astragalus cicer*, aus Samen aus dem bot. Garten München.

- No. 6. *Oxytropis lapponica*, aus Samen aus dem bot. Garten Petersburg.
No. 7. „ *montana*, vom botanischen Garten Bern.
No. 8 u. 9. „ *Purshiana*, aus Samen aus dem bot. Garten Kew.
No. 10. „ *campestris*, vom botanischen Garten Bern.

Mein Protokoll weist folgende Eintragungen auf:

- No. 2 (*Astrag. glycyphyll.*) zeigte am 24. Juli Uredolager.
No. 1 (*Astrag. glycyphyll.*) zeigte am 31. Juli Uredolager.
No. 3 (*Oxytrop. glabra*) hatte am 11. August Uredolager.
No. 4 (*Oxytrop. glabra*) dagegen schon am 24. Juli.
No. 5 (*Astragal. cicer*) blieb gesund.
No. 6 (*Oxytropis lapponica*) war klein und blieb pilzfrei.
No. 7 (*Oxytropis montana*) wie No. 6.
No. 8 u. 9 (*Oxytropis Purshiana*) blieb gesund.
No. 10 (*Oxytropis campestris*) war am 5. August dürr,

Die Identität der Formen auf *Astragalus glycyphyllos* und *Oxytropis glabra* ergibt sich auch aus dieser Versuchsreihe wie noch aus einer dritten Reihe, bei der Uredosporen von *Uromyces Astragali* (Opiz) auf *Astrag. glycyph.* stammend wieder *Astrag. glycyph.* und *Oxytropis glabra* mit positivem Erfolge infizierten. Bei diesen Uredoersuchen ergaben dagegen negative Resultate: *Astragalus cicer*, *Oxytropis campestris*, *O. Purshiana* und *O. lapponica*.

Aus diesen Uredoersuchen ergibt sich die Identität des Pilzes auf *Astragalus glycyphyllos*, *Oxytropis montana* und *O. glabra* ohne weiteres. Es erhebt sich nun noch die Frage, ob vielleicht die Formen auf *Astragalus depressus*, *Oxytropis campestris*, *Oxytropis lapponica* und *Lotus corniculatus* verglichen mit dem Typus auf den drei ersten Pflanzen konstante morphologische Unterschiede zeigen.

Für die Form auf *Astragalus depressus* konnte ich die Untersuchung nicht ausführen, da die pilzbefallenen *Astragalus depressus* frühe zu Grunde gingen, so daß ich mir kein Herbarmaterial aufheben konnte.

Von den Uredo- und Teleutosporen sowohl auf *Oxytropis campestris* wie auf *Oxytropis lapponica* wurde eine größere Anzahl einer vergleichenden Betrachtung mit dem Typus auf *Astrag. glycyph.*, *Oxytr. montana* und *Ox. glabra* unterzogen. Es konnten dabei weder auffallende Unterschiede im Bau noch in der Größe konstatiert werden. In diese Vergleichung wurde einbezogen der Pilz auf *Phaca alpina*, da diese Pflanze auch unter den Nährpflanzen von *Uromyces Astragali* (Opiz) aufgezählt wird. Auch für diese Form konnten, wenigstens soweit unsere Untersuchungen reichen, keine Unterschiede im Bau und in der Größe der Uredo- oder Teleutosporen herausgefunden werden. Die Form auf den angeführten Papilionaceen, die wir wohl zweckmäßig zur Unterscheidung von anderen als *Uromyces Euphorbiae Astragali* bezeichnen, besitzt als wichtigste morphologische Merkmale dünnwandige Uredosporen, mit 3—4 Keimporen und Teleutosporen mit meist warziger Skulptur.

Von diesem Typus weicht nun aber die Form auf *Lotus corniculatus*, die wir aus unseren Infektionsversuchen erhalten haben, dadurch ab, daß sie dickwandigere Uredosporen besitzt mit 3—4 Keimporen, die von breiter Papille bedeckt werden; zudem

geht die warzige Skulptur der Teleutosporen am Stielende derselben meist in wulstige Streifen über. In der Art der Skulptur der Teleutosporen nähert sich diese Form, die wir zur Unterscheidung von anderen als *Uromyces Euphorbiae Corniculati* bezeichnen wollen, dem *Uromyces striatus* Schroeter, den wir auf *Medicago sativa* untersuchten. Immerhin sind bei unserer Form die Leisten der Teleutosporen nicht so kräftig entwickelt; ferner besitzen die Uredosporen von *Ur. striatus* Schröter dünnwandige Uredosporen mit kleiner Papille über den Keimporen. Es läßt sich somit *Ur. Euphorbiae Corniculati* sowohl von *Ur. Euphorbiae Astragali*, wie von *Ur. striatus* Schroeter scharf unterscheiden. In Berücksichtigung dieser Ergebnisse müssen wir in der Tat annehmen, daß wir bei unseren Aecidienversuchen mit *Euphorbia*-Aecidien von der Oeschinenalp die Sporen zweier Typen verwendeten und es sind auf der Oeschinenalp daher sowohl die uredo- und teleutosporentragenden Papilionaceen wie auch die äcidientragenden Euphorbien der beiden Typen vergesellschaftet.

Als Nährpflanze von *Uromyces Astragali* (Opiz) wird von den Floren ferner noch *Astragalus exscapus* angegeben; wir haben daher diesen Typus, dessen Entwicklungsgang noch experimentell verfolgt werden muß, auch bei unseren mikroskopischen Untersuchungen berücksichtigt und folgende Unterschiede von den oben angegebenen Typen konstatiert:

Die Uredosporen von *Uromyces Astragali* (Opiz) auf *Astragalus exscapus* besitzen 7—8 Keimporen; die Teleutosporen sind dichtwarzig und stärker skulptiert. Für diese Form behalten wir den Namen *Uromyces Astragali* (Opiz) bei.

Die Diagnosen für die 3 Formen, in die wir den bisherigen *Ur. Astragali* (Opiz) gespalten haben, lassen sich folgendermaßen geben:

I. *Uromyces Euphorbiae Astragali* nov. spec.

Morphologische Verhältnisse: Aecidien und Pykniden, soweit unsere Beobachtungen reichen, denen von *Uromyces Pisi* (Pers.) gleich.

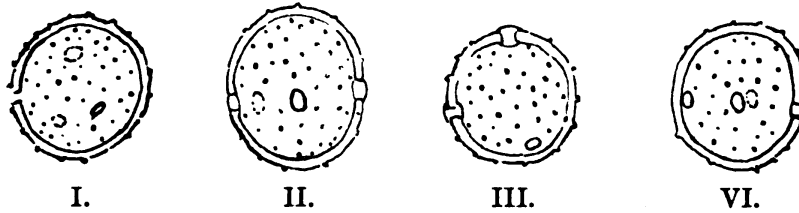
Sporenlager klein, rundlich oder länglich, meist auf der Oberseite der Blätter zerstreut, frühzeitig nackt, zuweilen zusammenfließend. Uredolager hellbraun, Teleutolager dunkelbraun.

Uredosporen kugelig oder ellipsoidisch; Länge 18—24 μ , Durchmesser 16—22 μ ; Membran blaßbraun, ziemlich dünnwandig: 1,5 bis 2,5 μ ; lockerstehende Stacheln; Keimporen 3—4, mit flacher Papille (vergl. Fig. I—IV). Teleutosporen kugelig bis eiförmig; Länge 17—23 μ , Durchmesser 15—21 μ ; Membran dunkelbraun, ziemlich dünn; Warzen rundlich, nicht dicht, häufig in Reihen stehend, gegen die Ansatzstelle des Stieles zu bisweilen in kurze Leisten übergehend (vergl. Fig. V—VIII).

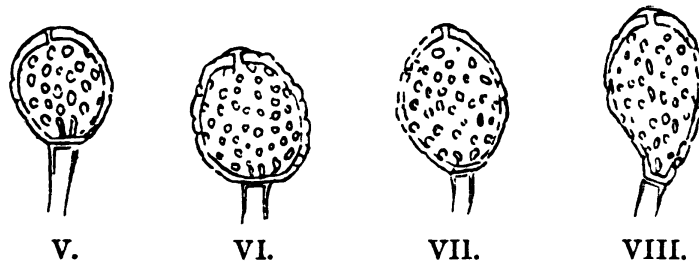
Biologische Verhältnisse: Heteröcisch. Experimentell sind als Nährpflanzen nachgewiesen worden: für die Aecidiengene-

ration *Euphorbia Cyparissias*, als Nährpflanze für die Uredo- und Teleutogeneration *Astragalus glycyphyllus*, *Oxytropis montana*, *O. campestris*, *O. glabra* und *O. lapponica*.

Außerdem ist dieser Pilz auf *Phaca alpina* beobachtet worden. Wir vermuten, auch *Astragalus depressus* sei Nährpflanze desselben.



Uromyces Euphorbiae Astragali n. sp. Uredosporen: I von *Oxytrop. montana*, II von *Oxytrop. campestris*, III von *Astragalus glycyph.*, IV von *Phaca alpina*.



Uromyces Euphorbiae Astragali n. sp. Teleutosporen: V von *Astrag. glycyph.*, V von *Oxytrop. lapponica*, VII, VIII von *Phaca alpina*.

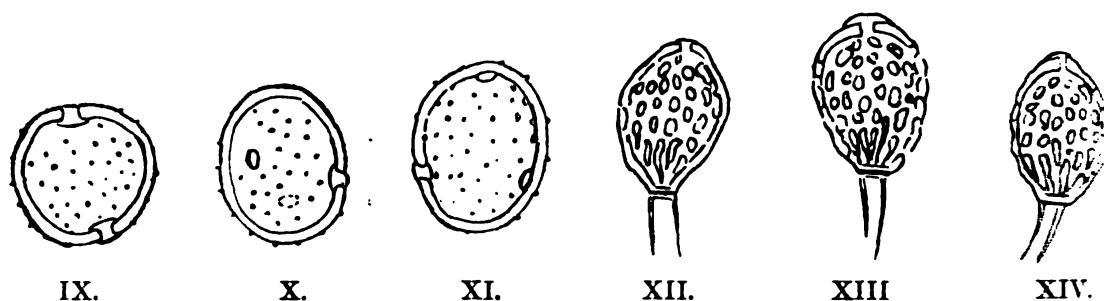
II. *Uromyces Euphorbiae Corniculati* nov. spec.

Morphologische Verhältnisse. Aecidien und Pykniden, soweit unsere Beobachtungen reichen, denen von *Uromyces Pisi* (Pers.) gleich.

Uredo- und Teleutosporenlager größer als bei der vorigen Art, rundlich oder länglich, häufig von einem blassen Hofe umgeben, vorwiegend auf der Unterseite der Blätter zerstreut; frühzeitig nackt; Uredolager braun, Teleutosporenlager dunkelbraun bis fast schwarz.

Uredosporen kugelig oder ellipsoidisch; Länge 18—25 μ , Durchmesser 17—23 μ ; Membran blaßbraun, dick: 2,5—3,5 μ , mit locker stehenden Stacheln; Keimporen 2—4, mit größerer Papille als bei der vorigen Art (vergl. Fig. IX—XI).

Teleutosporen kugelig bis eiförmig, Länge 18—23 μ , Durchmesser 15—21 μ ; Membran dunkelbraun; Warzen rundlich, meist länglich, in Reihen stehend, gegen die Ansatzstelle des Stieles fast immer in Leisten übergehend (vergl. Fig. XII—XIV.)



Uromyces Euphorbiae Corniculati n. sp. IX—XI Uredosporen.
XII—XIV Teleutosporen.

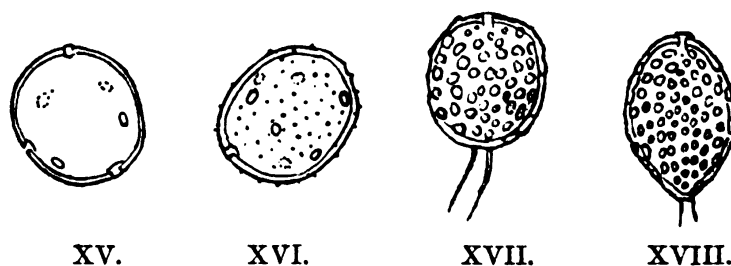
Biologische Verhältnisse: Heteröcisch. Nährpflanze für die Aecidiengeneration *Euphorbia cyparissias*. Nährpflanze für die Uredo- und Teleutosporengeneration *Lotus corniculatus*.

III. *Uromyces Astragali* (Opiz).

Morphologische Verhältnisse: (Aecidiengeneration noch nicht bekannt).

Uredo- und Teleutosporenlager meist rundlich, meist auf der Oberseite der Blätter zerstreut, frühzeitig nackt, hin und wieder zusammenfließend; Uredolager hellbraun, Teleutolager dunkelbraun. Uredosporen kugelig oder ellipsoidisch; Länge 18—25 μ , Durchmesser 17—23 μ ; Membran blaßbraun, ziemlich dünnwandig: 1,5—2,5 μ ; locker stehende Stacheln; einzelne Uredosporen fast glatt; Keimporen 6—8 (vergl. Fig. XV und XVI).

Teleutosporen kugelig bis eiförmig; Länge 17—23 μ , Durchmesser 16—21 μ ; Warzen rundlich, dicht stehend, stärker vorragend als bei den vorigen Formen (vergl. Fig. XVII und XVIII).



Uromyces Astragali (Opiz). XV, XVI Uredosporen, XVII, XVIII Teleutosporen.

Biologische Verhältnisse: Aecidien unbekannt; Uredo- und Teleutosporen auf *Astragalus exscapus*.

6. Uromyces Anthyllidis (Grev.)

soll nach P. A. Saccardo, Sylloge fungorum. Vol. XI. p. 818, auf Anthyllis-Arten, auf Coronilla emeroides und auf Trigonella Foenum graecum vorkommen. Als weitere Nährpflanzen gibt Schroeter Lupinus-Arten an. Dieser Pilz, der nach den derzeitigen Kenntnissen zu den sogenannten Hemiuromyces gezählt werden muß, zeichnet sich durch das Prädominieren der Uredosporen aus. Bis in den Spätherbst findet man diese, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß der Pilz mittelst der Uredosporen überwintert. Diesbezügliche Versuche fehlen allerdings unseres Wissens noch, die Art der Ueberwinterung konnten wir ebenfalls nicht prüfen, da uns letztjährige Uredosporen fehlten resp. im Momente, wo wir solche auf grünen Blättern von Anthyllis Vulneraria fanden, geeignete Versuchspflanzen uns nicht zur Verfügung standen. Die starke Uredobildung sowie die vermutete Uredoüberwinterung stehen vielleicht im Zusammenhange mit dem Umstande, daß die bodenständigen Blätter von Anthyllis Vulneraria den Winter über frisch bleiben. Wir fanden z. B. Mitte April dieses Jahres letztjährige Blätter dieser Pflanze, die schön frisch waren und, wie es schien, sich weiter entwickelten und Uredolager trugen. Wir vermuten, diese Uredosporen seien noch keimfähig gewesen.

Zum Zwecke der Feststellung der Identität oder Nichtidentität der Formen auf den oben angegebenen Nährpflanzen wurden folgende Infektionsversuche eingeleitet:

Versuchsreihe 34.

Eingeleitet am 18. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf Anthyllis Vulneraria, die am 17. Juni am Waldrande bei Hofen, Wohlen, gesammelt worden waren.

Versuchspflanzen:

- No. 1—3. Anthyllis Vulneraria aus Samen aus einer Samenhandlung in Bern.
- No. 4. Lupinus spec., wie No. 1—3.
- No. 5. " arboreus, im botanischen Garten Bern gezogen.
- No. 6. Trigonella Foenum graecum, wie No. 5.
- No. 7. Ononis spinosa im Herbst 1902 bei Bern ausgegraben.
- No. 8. " repens, aus Samen vom botan. Garten München.
- No. 9. Anthyllis montana wie No. 5.

Die Nummern 1—3 (Anthyll. Vulner.) zeigten am 29. Juni an den Blattoberseiten gelbe Stellen. Am 1. Juli tragen die Nummern 2 und 3 offene Uredolager, am 7. Juli auch die Nummer 1.

Die Nummern 4 (Lup. spec.), 5 (Lup. arbor.), 6 Trigonella Foen. graecum), 7 (Ononis spin.), 8 Ononis rep.) und 9 (Anthyll. mont.) blieben während der Dauer dieses Versuches pilzfrei.

Positive Resultate wurden somit einzig und allein auf Anthyllis Vulneraria erzielt. Das gleiche Ergebnis erhielten wir bei

Versuchsreihe 35.

Eingeleitet am 10. Juni 1903.

Infektionsmaterial: Uredosporen auf Anthyllis Vulneraria am 9. Juni am Eisenbahndamm bei Ostermündigen gesammelt.

Versuchspflanzen:

- No. 1—3. Anthyllis Vulneraria, wie No. 1—3 beim vorigen Versuch.
 No. 4 u. 5. Trigonella Foenum graecum, im botan. Garten Bern gezogen.
 No. 6. Lupinus arboreus wie No. 4 und 5.
 No. 7. „ spec., wie No. 1—3.
 No. 8. Ononis spinosa wie No. 7 beim vorigen Versuch.

Am 26. Juni und am 29. Juni wurden diese Pflanzen durchmustert und folgendes beobachtet:

No. 1 u. 3 (Anthyll. Vulner.) zeigten am 26. über die Blattoberfläche zerstreute Uredolager.

No. 2 (Anthyll. Vulner.) desgleichen am 29. Juni. Die übrigen Pflanzen blieben auch bei diesem Versuche gesund.

Auch bei dieser Versuchsreihe wie noch bei einer dritten mit gleichem Infektionsmaterial ausgeführten Versuchsreihe ergab sich, daß Uredosporen vom Uromyces Anthyllidis (Grev.) auf Anthyll. Vulneraria einzig und allein diese Pflanze befallen, während wir mit Lupinus arboreus, Lup. spec., Ononis spinosa, On. repens, Trigonella Foenum graecum und Anthyllis montana nur negative Resultate erhielten.

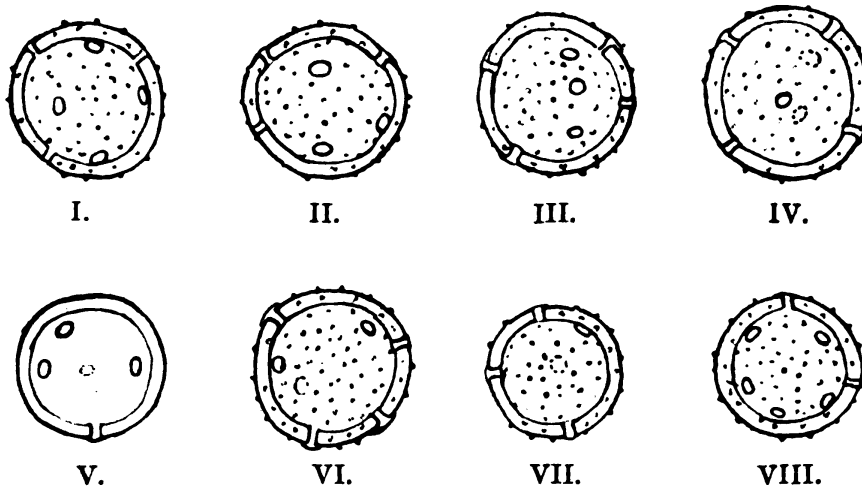
Gestützt auf diese Resultate kann geschlossen werden, daß diese Art mit Recht aus der von Winter¹⁾ aufgestellten Sammel-species Uromyces Genistae tinctoriae ausgeschieden worden ist. Es ergibt sich aus unseren Versuchen ferner, daß wir den Pilz auf Anthyllis Vulneraria von den Formen auf Lupinus- oder Ononis-Arten oder von der Form auf Trigonella Foenum graecum abzutrennen haben, da dieser Pilz biologische Unterschiede zeigt. Es fragt sich nun aber noch, ob zwischen den Formen auf den in Frage stehenden Papilionaceen vielleicht auch morphologische Unterschiede vorkommen. Es wurden zahlreiche Uredosporen vom Pilz auf Anthyllis Vulneraria mit einer Form auf Lupinus sp., die von Capri stammte, auf event. Unterschiede hin geprüft. Ein Unterschied in Bezug auf Form, Größe, Art der Skulptur und Zahl der Keimsporen konnte indessen nicht konstatiert werden. Es sind somit Uromyces Anthyllidis (Grev.) auf Anthyllis Vulneraria und auf Lupinus sp. höchstens biologische Formen, und ihre Diagnose läßt sich wie folgt geben:

Morphologische Verhältnisse: Uredo- und Teleutosporenlager rundlich oder länglich, meist auf der Oberseite der Blätter, manchmal gruppiert oder um ein zentrales Häufchen kreisförmig gestellt, frühzeitig nackt; Uredolager zimmt- bis chokoladenbraun; Teleutolager dunkelbraun.

Uredosporen meist kugelig, Durchmesser: 20—25 μ (nach Bubák 22—28,6 μ). Membran blaßbraun, dickwandig: 2,5—3,5 μ ; mehr oder weniger feine Stacheln, ungleich locker stehend; Keimsporen 6—8, mit flacher Papille (nach Bubák 4—5 Keimsporen) (vergl. Fig. I—VIII).

Teleutosporen kugelig oder fast kugelig; Länge 18—21 μ , Durchmesser 17—19 μ (nach Bubák 22—28 μ lang). Membran dunkelbraun, ziemlich dick, mit kräftigen, stark vorspringenden

1) Pilze Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz. p. 146.



Uromyces Anthyllidis (Grev.) Uredosporen I—IV v. *Anthyllis Vuln.* V—VIII von *Lupinus* sp. stammend.

Warzen; Keimporus scheitelständig von breiter, niedriger, farbloser Kappe bedeckt; Sporen leicht abfällig.

Biologische Verhältnisse: Nährpflanze der Uredo- und Teleutosporengeneration der ersten biologischen Art *Anthyllis Vulneraria*, der zweiten *Lupinus* sp.

Anmerkungen: I. Auf *Lupinus* sp. kommt in Kalifornien *Uromyces Lupini* Sacc. [1873]¹⁾ vor, der von oben beschriebener Form durch glatte, am Scheitel bis auf 10 μ verdickte und sehr lang gestielte Teleutosporen weit verschieden ist.

II. Ferner ist mit dem von uns auf *Lupinus* untersuchten *Uromyces* nicht identisch *Uromyces lupinicolus* Bubák nov. nom.²⁾, dessen Diagnose Bubák, wie folgt, angibt:

„*Hemiuromyces*?

Uredolager auf rundlichen, bräunlichen Flecken an der Blattunterseite einzeln oder in kleinen Gruppen verteilt, rundlich, zimtbraun, staubig. Sporen kugelig, 19,8—24,2 μ lang, 15,4—19,8 μ breit, mit gelbbrauner, dünner (1 μ), feinstacheliger Membran und 2—3 Keimporen.

Teleutosporenlager wie die Uredosporenlager, aber braun. Sporen selten kugelig, meistens eiförmig, ellipsoidisch, bis keilförmig verlängert, 24,2—35,2 μ lang, 13,2—19,8 μ breit, am Scheitel abgerundet und daselbst öfters mit einer dünnen Papille versehen, unten gewöhnlich in einen kurzen Stiel verjüngt, mit hellbrauner etwa 2 μ dicker und feinwarziger Membran.“

1) Bubák, „Einige neue oder kritische *Uromyces*-Arten“. (Sitzungsberichte der königl. böhmischen Gesellschaft der Wissenschaften in Prag. 1902.)

Nachdruck verboten.

Ein Apparat zum Erhalten von Wasserstoffgas auf elektrolytischem Wege mit automatischer Regulierung des Druckes des ausströmenden Gases.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des botan. Institutes der kaiserl. militär-medizinischen Akademie zu St. Petersburg.)

Von S. S. Mereshkowsky.

Mit 1 Figur.

Ein jeder, der für Anaërobenkulturen auf chemischem Wege, d. h. mit Säure auf Metall einwirkend, Wasserstoffgas zu erhalten hatte, weiß, wie umständlich und wenig zweckmäßig diese Methode ist. Unvergleichlich praktischer ist es, dieses Gas durch Zersetzung des Wassers mittelst elektrischen Stromes zu erhalten. Doch wenn wir zu diesem Zwecke die Apparate anwenden wollten, welche gewöhnlich zur Zersetzung des Wassers mittelst Elektrizität gebraucht werden, so würden dieselben sich als untauglich erweisen, da die Gasbläschen, die sich an den Elektroden ausscheiden, leicht von einem Pol zum anderen übergehen, wobei das frei werdende Wasserstoffgas hier eine mehr oder weniger beträchtliche Beimischung von Sauerstoff enthält. Außerdem tritt das Gas aus solchen Apparaten unter einem Druck heraus, welcher nur unbedeutend den Druck der äußeren Atmosphäre übersteigt, woher das Ausströmen des Gases sofort aufhört, sobald auf seinem Wege irgend ein Hindernis, wie Gaswaschflaschen, hydraulische Verschlüsse oder dergleichen, gestellt wird. Außerdem verlangen diese Apparate während der Arbeit eine strenge Beaufsichtigung, da ihr regelrechtes Wirken nur bei genauer Regulierung des austretenden Gasstromes möglich ist, d. h. wenn das Gas gerade in dem Quantum herausgelassen wird, in dem es sich im Apparat bildet. In der Praxis ist es unmöglich, eine derart genaue Regulierung mit den gebräuchlichen Mitteln zu erreichen, infolgedessen wird das Gas entweder in zu starkem Strome herausgelassen und dann beginnt auch bald das Wasser aus dem Apparate hervorzutreten, oder aber bei sehr geringem Verbräuche sammelt sich das Gas an und verdrängt das Wasser aus dem Ergänzungsbehälter.

In unserem Apparat zur Gewinnung des Wasserstoffs mittelst Elektrolyse versuchten wir diese Mängel durch folgende Vorrichtungen zu beseitigen:

1) Um die Mischung der Gase zu verhindern, wurden die Elektroden in breite Gefäße getaucht, infolgedessen sanken sogar bei energischer Wasserzersetzung die Gasbläschen nie so tief herab, daß sie in das andere Gefäß hinübergelangen könnten.

2) Um den Druck des ausströmenden Gases nach Wunsch regulieren zu können und infolgedessen in der Wahl und Größe des Widerstandes, welchen es in Form von Gaswaschflaschen und dergleichen auf seinem Wege zu überwinden hat, nicht eingeschränkt zu werden, ist das Reservoir, welches das angesäuerte Wasser enthält, beweglich mit dem Apparat verbunden.

3) Ist eine Vorrichtung angebracht, die unten genauer beschrieben wird und durch welche die Arbeit des Apparates automatisch und unabhängig von der Größe des Gasverbrauchs reguliert wird, weshalb der Apparat ohne jegliche Aufsicht regelrecht funktionieren kann.

Die Beschreibung des Apparates. Wie aus der Zeichnung ersichtlich, besteht der Apparat aus zwei weiten gläsernen Gefäßen *A* und *B*, welche an ihrem Boden mit Tubulussen versehen sind. Die letzteren sind durch einen weiten Kautschukschlauch miteinander verbunden. Die Hälse der Gefäße sind mittels Gummipfropfen verschlossen, durch welche die Elektroden *C* und *D* hindurchgelassen sind. Um die Elektroden beweglich zu machen und die Möglichkeit zu haben, dieselben auf beliebige Höhe einzustellen, sind ihre Stiele in Glasröhrchen eingelötet, welche beweglich in anderen, breiteren Glasröhren sitzen; diese letzteren sind in die Gummipfropfen der Gefäße *A* und *B* eingesetzt. Der Zwischenraum dieser 2 Glasröhren ist mittels eines kurzen Gummischlauches, welcher auf ihr unteres Ende aufgesetzt ist, für Wasser undurchdringlich gemacht. Das Glasröhrchen, in welches der Stiel der Elektrode eingelötet ist, endet in der Höhe des Gefäßhalses; um diesen Stiel stabiler zu machen, wird er durch einen kleinen Gummipfropfen hindurch gelassen, welcher in das Innere des breiteren Glasrohres eingestellt ist.

Durch den Pfropfen des Gefäßes *A* sind noch 2 Glasröhren *F* und *G* hindurch gelassen.

Die Glasröhre *F* fängt gleich unter dem Pfropfen des Gefäßes *A* an; ihr oberes Ende ist mittels eines Gummischlauches mit dem Regulator *H* verbunden. Sie dient zur Ableitung des Wasserstoffs aus dem Apparat.

Die Röhre *G* reicht bis zum Boden des Gefäßes *A* und ihr oberes Ende ist durch einen Gummischlauch mit dem Gefäße *I*, in welchem sich angesäuertes Wasser befindet, verbunden. Dieses Gefäß *I* kann auf eine beliebige Höhe eingestellt werden, wodurch der Druck des aus dem Gefäße ausströmenden Gases variiert werden kann.

Das Gefäß *I* muß so groß sein, daß es die ganze Flüssigkeit aus dem Gefäße *A* bis zur völligen Befreiung der Elektrode aufnehmen kann.

An dem Gummischlauch, welcher das Gefäß *I* mit dem Rohre *G* verbindet, ist, näher zu *G* hin, ein Y-förmiges Rohr *K* angebracht, welches mit dem Regulator *H* mittels eines Gummischlauches in Verbindung steht.

Der Regulator *H* stellt ein cylindrisches Glasgefäß vor, in welches von unten zwei, von oben ein Glasrohr eingelötet ist. Von den unteren Glasröhren ist das eine mit dem *Y*-förmigen Rohr, das andere mit dem Rohre *F* verbunden; von dem oberen geht ein Gummischlauch zu den Gaswaschflaschen *L* und dem Apparat für Anaërobenkulturen *M*¹⁾.

Wie aus der Zeichnung ersichtlich, ist der Regulator *H* an einem Stativ befestigt. Man kann ihn jedoch direkt am Halse des Gefäßes *I* anbringen.

Durch den Gummipfropfen des Gefäßes *B* ist außer dem Glasrohre *E'*, welches die Elektrode trägt, noch ein breites Glasrohr *N* hindurchgelassen, welches gleich unterhalb des Pfropfens beginnt und deren oberes Ende bis zu einer Höhe von 1—1,5 m emporsteigt und frei in die Luft mündet.

Durch den Hals des Gefäßes *I* werden die Gefäße *A* und *B* vollständig mit angesäuertem Wasser angefüllt. Der weitere Ueber-schuß ist von dem Drucke, unter welchem man das Gas ausströmen zu lassen gedenkt, abhängig, und füllt den Gummischlauch *IG*. Das Gefäß *I* muß dagegen am Anfange der Arbeit, wenn sich das Gas an den Elektroden noch nicht ausscheidet, leer bleiben.

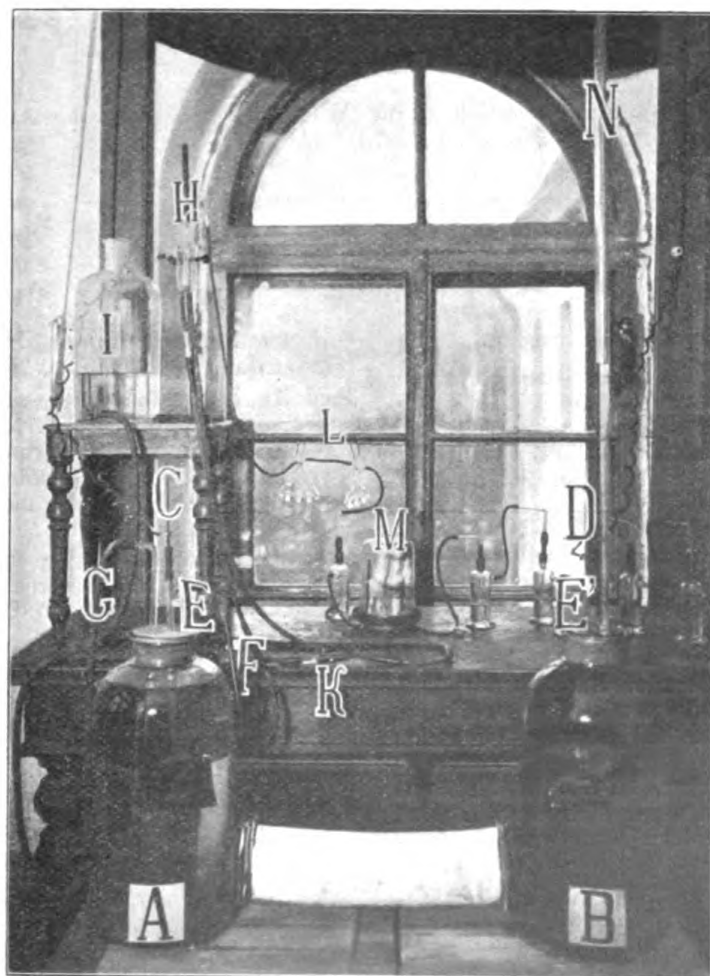
Die Arbeit des Apparates. Das obere Rohr des Regulators *H* wird mit den Gaswaschflaschen und dem Apparat für Anaërobenkultur *M* verbunden. Das Gefäß *I* mit dem Regulator *H* wird auf eine solche Höhe eingestellt, daß das aus dem Gefäß *A* ausströmende Gas den auf seinem Weg aufgestellten Widerstand zu überwinden vermag, wobei man darauf achtet, daß der Gummischlauch *IG* vollständig mit angesäuertem Wasser gefüllt ist. Danach beginnt man mit der Durchleitung des elektrischen Stromes, durch dessen Wirkung sich auf der Kathode Wasserstoffbläschen ausscheiden. Wenn das Gefäß *A* bis oben mit Flüssigkeit angefüllt ist, so werden die Wasserstoffbläschen durch den Schlauch *FH* in den Regulator *H* emporsteigen und sich mit der hier eingeschlossenen Luft mischen. Wenn nun im Regulator *H* der Druck so groß wird, daß das Gas die auf seinem Wege in Form von Gaswaschflaschen und dergleichen aufgestellten Widerstände überwinden kann, so wird es aus dem Regulator heraustreten und in Form von einigen Gasbläschen durch die Gaswaschflaschen und den Apparat *M* in die freie Luft hinausdringen. Dann wird eine Pause entstehen, bis in *H* der Druck wieder genügend gewachsen ist, worauf sich von neuem einige Gasbläschen frei machen werden u. s. w. Die Schnelligkeit der Entwicklung der Gasbläschen wird von der Größe des Apparates etc., abhängen. Der Apparat, welchen unsere Zeichnung darstellt, ist für die Entwicklung von 1 ccm per 1 Sekunde berechnet.

Wenn der Versuch des Wasserstoffgases geringer ist als die Bildung desselben an der Elektrode, so wird das Gas die Flüssig-

1) Centralbl. für Bakter. u. Parasit. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. No. 5.

keit zuerst aus dem Schlauche *HF*, dann aus dem Gefäße *A* in die Gefäße *I* und *B* zurückdrängen. Dies wird so lange dauern, bis die Elektrode *C* teilweise entblößt und infolgedessen die Gasbildung herabgesetzt wird.

Wenn der elektrische Strom während der Arbeit zufällig unterbrochen wird oder der Gasverbrauch unerwartet groß ausfällt und infolgedessen der ganze Vorrat, welcher sich in *A* und *H* befand, heraustritt, so wird das Wasser zuerst das Gefäß *A* füllen, dann



in dem Schlauch *FH* emporsteigen; weiter aber wird es sich nicht heben können, weil der Regulator *H* sich höher befindet als die den Druck ausübende Flüssigkeitsoberfläche des Gefäßes *I*, das sich zu dieser Zeit entleert haben wird.

Auf diese Weise ist jede Möglichkeit ausgeschlossen, daß die hier befindliche Flüssigkeit in die Gaswaschflaschen eindringt. Die Arbeit des Apparats wird also automatisch reguliert.

Der Apparat funktioniert nur bei konstantem Strom, und wenn man daher bloß einen Wechselstrom zur Verfügung hat, so muß dieser in einen konstanten umgewandelt werden. Wir bedienten uns zu diesem Zweck des Aluminiumstromtrichters von W. Mitkewiz¹⁾, welcher parallel mit einer kleinen Batterie von Akkumulatoren verbunden war.

Zum Schluß halte ich es für meine Pflicht, den Herren Dr. N. Orlof und W. Mitkewiz für ihre Beihilfe bei der Berechnung der Dimensionen des Apparates, sowie für die Ratschläge bei seiner Aufstellung meinen besten Dank auszusprechen.

Den 3. Dezember 1903.

¹⁾ Ein Aluminiumstromrichter für Wechselstrom und seine Anwendung. (Physikal. Zeitschr. 1901. No. 52. p. 747.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Filatoff, E. D., Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Organismus der *Bombyx mori* (L.) und der *Periplaneta orientalis* (L.) bei artifizierlicher Infektion derselben. (Schluß), p. 748.

Gaucher, Louis, Sur quelques bactéries chromogènes isolées d'une eau de source, p. 721.

Jordi, Ernst, Beiträge zur Kenntnis der Papilionaceen bewohnenden Uromyces-Arten, p. 763.

Marshall, Charles E., A preliminary note on the associative action of Bacteria in the souring of milk, p. 739.

Mereschkowsky, S. S., Ein Apparat zum Erhalten von Wasserstoffgas auf elektrolytischem Wege mit automa-

tischer Regulierung des Druckes des ausströmenden Gases, p. 796.

Modella, A., Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. Ed. v. Freudenreich „Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobearten bei Hartkäsen“, p. 744.

Schroeder, Max, Beiträge zur Kenntnis der Stoffwechselprodukte des *Bac. lact. aërogenes*, p. 732.

Stålström, Axel, Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung steriler und in Gärung befindlicher organischer Stoffe auf die Löslichkeit der Phosphorsäure des Tricalciumphosphats, p. 724.

Uta, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch. (Schluß), p. 733.

Fig 1



Fig 2



Fig 3.



Verlag J. G. Fischer, Jena

Verlag J. G. Fischer, Jena

Lith. Anst. v. J. Andr. Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

**Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische
Bakteriologie, Gärungsphysiologie,
Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.**

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin,
Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft,
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof.
Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau
in Wädenswil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-
castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U.S.A., Prof.
Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Welmer in Hannover, Prof. Dr.
Welgmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XI. Band.

Jena, den 16. Mai 1904.

No. 26.

Preis für den Band (etwa 50 Bogen) 15 Mark.

Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.

Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XI enthaltenen Arbeiten.

Aderhold, R., II. Beitrag zur Pilzflora
Proskaus. 571

—, Der heutige Stand unserer Kennt-
nisse über die Wirkung und Verwer-
tung der Bordeauxbrühe als Pflanzen-
schutzmittel. 717

—, Ueber eine bisher nicht beobachtete
Krankheit der Schwarzwurzeln. 576

Adler, Oskar, Ueber Eisenbakterien in
ihrer Beziehung zu den therapeutisch
verwendeten natürlichen Eisenwässern.
(Orig.) 215. 277

d'Almeida, José Verissimo e de Souza
da Camera, M., Estudos mycologicos.

Zweite Abt. Bd. XI.

Trabalhos realizados no Laboratorio
de Nosologia Vegetal do Instituto de
Agronomia e Veterinaria. 70

Ansai, Bakteriologische Untersuchung
über Shoyu. 563

Appel, O., Zur Kenntnis der Ueberwin-
terung des Oidium Tuckeri. (Vorl.
Mitt.) 143

—, Otto und Strunk, H. F., Ueber einige
in Kamerun auf Theobroma cacao be-
obachtete Pilze. (Orig.) 551. 632

Bandi, W., Beiträge zur Biologie der
Uredineen [Phragmidium subcorticum

51

- (Schränk) Winter, *Puccinia caricia montanae* Ed. Fischer. 567
- Baudisch, Fr., Ueber *Dendroctonus micans* Kug. 359
- Beauverie, J., La maladie des platanes. 299
- Beck, R., Beiträge zur Morphologie und Biologie der forstlich wichtigen *Nectria*-Arten, insbesondere der *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. 565
- Beguinot, A., Studio anatomico di due cecidi del genere *Cuscuta*. 582
- Beijerinck, M. W., Ueber die Bakterien, welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle ernähren können. (*Orig.*) 593
- Bélèze, Marguerite, Quelques observations sur les „criblures en grains de plomb“ qui perforent les feuilles de certains végétaux cultivés et sauvages des environs de Montfort-l'Amaury et de la forêt de Rambouillet-Seine et Oise. 299
- Benecke, W. und Kuntner, J., Ueber stickstoffbindende Bakterien aus der Ostsee. 346
- Bergmiller, F., *Dendroctonus micans* und *Rhizophagus grandis*. 359
- Bertarelli, E., Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. (*Orig.*) 8. 45
- Beseler, W., Versuche mit Kupfervitriolspritzungen auf Cunrauer Moordämmen zu Pferdebohnen. 587
- Bischoff, Ueber Eismilch. 68
- Bokorny, Th., Enthalten die keimenden Samen peptonisierende oder andere proteolytische Enzyme? 67
- , Kann Hefe mit Formaldehyd ernährt werden? 343
- , Können einzelne physiologisch wichtige Aschenbestandteile des Organismus durch andere, chemisch ähnliche Elemente ersetzt werden? 15
- , Zur Frage der Kohlensäure-Assimilation. 344
- Bubák, Fr., Krankheiten der Zuckerrüben und des Getreides in Böhmen im Jahre 1902. 583
- , Zwei neue, Monocotylen bewohnende Pilze. 355
- Buchner, Eduard und Meisenheimer, Jakob, Ueber die Enzyme von *Monilia candida* und einer Milchsukkerhefe. 706
- Buhlert, Einiges über die Behandlung des Stalldüngers. 715
- Butjagin, B., Vorläufige Mitteilung über Sauerkrautgärung. (*Orig.*) 540
- Camara Pestana, João, Destruição da „*Altica ampelophaga*“ por meios do „*Sporotrichum globuliferum*“. 237
- Cambler, R. s. Miquel, P.
- Cannon, Matthew, J., Diastase. 340
- Causemann-Merkenich, Die sehr verschiedene Wirkung eines gut oder schlecht durchlüfteten Bodens in Bezug auf Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge 716
- Cavara, F., *Riccia aetnensis* Cav., nouveau genre de champignons du Mont Etna. 569
- Cecconi, G., Contribuzione alla cecidologia toscana. 583
- , Zooceci della Sardegna. 583
- Chamot, E. M. et Thiry, G., Notes sur le pigment du *Bacillus polychromogenes*. 296
- Chlapella, A. R., Ricerche microbiologiche sull'olio di oliva. 232
- Christensen, Harald R., Zwei fluoreszierende Denitrifikationsbakterien. (*Orig.*) 190
- Connel, W. T. siehe Harrison, F. C.
- Coupin, H., Sur la nutrition du *Sterigmatocystis nigra*. 52
- Dangeard, P. A., Sur le nouveau genre *Protascus*. 108
- , Un nouveau genre de Chytridiacées: le *Rhabdium acutum*. 22
- Daniel, L., Peut-on modifier les habitudes des plantes par la greffe? 300
- , Sur la structure du bourrelet dans les plantes greffées. 74
- Delbrück, M., Die Anwendung der Enzymforschung auf die Essiggärung. 342
- Delden, A. van, Beitrag zur Kenntnis der Sulfatreduktion durch Bakterien. (*Orig.*) 81. 113
- Delezenne et Mouton, Sur la présence d'une érepsine dans les champignons basidiomycètes. 230
- Demoussy, E., Sur la végétation dans l'atmosphère riche en acide carbonique. 362
- Diedicke, H., Ueber den Zusammenhang zwischen *Pleospora* und *Helminthosporium*-Arten. II. (*Orig.*) 52
- Dierkx, Fr., Essai de revision du genre *Penicillium* Link. Note préliminaire. 295
- Dörr, K., Ueber die Verwendung von Terpentin beim Fange des *Hylobius abietis* L. 301
- Dreyer, A., Mitteilung über den Rußtau: *Capnodium salicinum* Mont. 577
- Ellis, David, On the discovery of cilia in the genus *Bacterium*. (*Orig.*) 241

- Eriksson, J.**, The researches of Professor H. Marshall Ward on the brown roset on the bromes and the mycoplasma hypothesis. 578
- Ewert**, Das Auftreten von *Cronartium ribicolum* auf verschiedenen Ribes-Arten in den Anlagen des kgl. pomolog. Instituts zu Proskau. 571
- Falvre**, Etude bactériologique sur les eaux sulfureuses. 562
- Falek, R.**, Die Kultur der Oidien und ihre Rückführung in die höhere Fruchtförm bei den Basidiomyceten. 354
- Farnetti, R.**, Intorno allo sviluppo ed al polimorfismo di un nuovo micromicete parassita. 566
- Filatoff, E. D.**, Ueber das Verhalten einiger Bakterienarten zu dem Organismus der *Bombyx mori* (L.) und der *Periplaneta orientalis* (L.) bei artifizierlicher Infektion derselben. (Orig.) 658. 748
- Foa e Chiapella**, Ricerche sopra un nuovo microorganismo fosforescente sperimentale 705
- Freudenreich, Ed. v.**, Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen. (Orig.) 327
- Fürst**, Zur Frage des Entkeimens der Kindermilch im Hause. 715
- Gaucher, Louis**, Sur quelques bactéries chromogènes isolées d'une eau de source. (Orig.) 721
- Gerlach und Vogel**, Versuche mit dem Stalldünger-Konservierungsmittel Patent Dr. Rippert. 715
- Gillet, Charles**, Existe-t-il une lipase dans le lait? 231
- Godlewski sen., Emil**, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. 409
- Golding, John**, Experiments on Peas in Water Culture. (Orig.) 1
- Grijns, G.**, Die Ascusform des *Aspergillus fumigatus*. (Orig.) 330
- Guéguen, F.**, Recherches anatomiques et biologiques sur le *Gloeosporium phomoides* Sacc. parasite de la Tomate. 232
- Guilliermond, A.**, Remarques sur la copulation du *Schizosaccharomyces mellacei*. 21
- Gvozdenović, Fr.**, In Dalmatien im Jahre 1902 beobachtete Pflanzenkrankheiten und Schädlinge. 25
- Happich**, Ueber Milchbakterien. 564
- Harding, H. A.** siehe **Stewart, F. C.**
- Harrison, F. C. and Connel, W. T.**, A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. (Orig.) 637
- Hartley, Ch. P.**, Injurious effects of premature pollination with general notes on artificial pollination and the setting of fruit without pollination. 300
- Hefferan, Mary**, A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. (Orig.) 311. 397. 456. 520
- Henneberg, W.**, Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. 154
- Hennings, P.**, Die an Baumstämmen und Holz auftretenden, teilweise parasitären heimischen Bläterschwämme. 577
- , *Fungi S. Paulenses a cl. Puttemans collecti* II. 358
- Herlitzka, Sull'** isolamento di un corpo glicolitico dal *Saccharomyces cerevisiae*. 412
- Herzog, R.**, Zur Biologie der Hefe. 228
- Hinze, P.**, *Thiophysa volutans*, ein neues Schwefelbakterium 563
- H. M. M.**, Der *Fusicladium*-Schädling. 577
- Houard, C.**, Caractères morphologiques des *Pleurocécidies caulinares*. 579
- , Recherches anatomiques sur les galles de tiges (*Pleurocécidies*). 580
- , Recherches sur la nutrition des tissus dans les galles de tiges. 579
- Hunger, F. W. T.**, Die Verbreitung der Mosaikkrankheit infolge der Behandlung des Tabaks. (Orig.) 405
- Jaap, Otto**, *Fungi selecti exsiccati*. 294
- Jacobitz, E.**, Beitrag zur Frage der Stickstoffassimilation durch den *Bacillus ellenbachensis* a Caron. 712
- Jaczewski, A. v.**, Ueber das Vorkommen von *Neocosmospora vasinfecta* E. Smith auf *Sesamum orientale*. 23
- , Ueber eine neue Krankheit auf der Eberesche, *Sorbus Aucuparia*. 24
- Jahn**, Der Zellbau und die Fortpflanzung der Hefe. 411
- Janssens, A** propos du noyau de la levure. 707

- Ikeno, S.**, Die Sporenbildung von Taphrina-Arten. 342
- , Ueber die Sporenbildung und systematische Stellung von *Monascus purpureus* Went. 68
- Jordi, Ernst**, Beiträge zur Kenntnis der Papilionaceen-bewohnenden Uromyces-Arten. (*Orig.*) 763
- Istvánffy, Gy.**, A Botrytis, Monilia és Coniothyrium sporáinak életképességéről. [Ueber die Lebensfähigkeit der Botrytis-, Monilia- und Coniothyrium-Sporen.] 584
- Istvánffy, Julius v.**, Ueber grundlegende Versuche zum Schutze gegen Botrytis und Monilia. 172
- , Ueber neue Weinrebenschädlinge in Ungarn. 575
- Iterson jr., C. van**, Die Zersetzung von Cellulose durch aërobe Mikroorganismen. (*Orig.*) 689
- Jungner, J. R.**, Fritfliege und Stockälchen. 583
- Katteln und Schoofs**, Versuche zur Reinigung von Molkereiabwässern durch das Oxydationsverfahren. 28
- Klessling, Fritz**, Die Mikroorganismen in Natur und Technik. 65
- Kita, Toyokichi**, Ueber die Mikroorganismen und Zersetzung des gekochten Reises (japan. B-ë han). 294
- Klug, Anton**, Der Hausschwamm, ein pathogener Parasit des menschlichen und tierischen Organismus, speziell seine Eigenschaft als Erreger von Krebsgeschwülsten. 234
- König, J. und Spieckermann, A.**, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. II. Das Fadenziehenderwerden des Brotes. Ausgeführt von J. Tillmanns. 61
- Kohl, F. G.**, Untersuchungen über die von *Stilbella flavida* hervorgerufene Kaffeekrankheit. 355
- Kollegorsky, E. und Zassouchine, O.**, De l'influence de l'alimentation hydrocarbonée de la levure sur le rapport des gaz échangés. (*Orig.*) 95
- Kovchoff, J.**, L'influence des blessures sur la formation des matières protéiques non digestibles dans les plantes. 172
- Lamson-Scribner, F.**, siehe Pammel, L. H.
- Lindau, G.**, Hilfsbuch für das Sammeln der Ascomyceten mit Berücksichtigung der Nährpflanzen Deutschlands, Oesterreich-Ungarns, Belgiens, der Schweiz und der Niederlande. 565
- Lindau, G.**, Ueber die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. 27
- Lindner, P.**, Die biologische Analyse der untergärigen Bierhefe mit Hilfe eines Vortrocknungsverfahrens. 336
- , Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*. 336
- Lindroth, J. J.**, Verzeichnis der aus Finnland bekannten *Ramularia*-Arten. 235
- Loew, O.**, Catalase, a new enzym of general occurrence. 106
- Long, William H. jr.**, The Ravenelias of the United States and Mexico. 572
- Lux, Arthur**, Ueber den Gehalt der frisch gemolkenen Milch an Bakterien. (*Orig.*) 195. 267
- Maggiora, R.**, Alcune prove con la recente modificazione del Gosio al suo metodo biochimico di ricerca dell'arsenico. 237
- Magnus, Paul**, Ein von F. W. Oliver nachgewiesener fossiler parasitischer Pilz. 23
- Malkoff, Konstantin**, Eine Bakterienkrankheit auf *Sesamum orientale* in Bulgarien. (*Orig.*) 333
- Mangin, L.**, Sur la maladie du châtaignier causée par le *Mycelophagus Castaneae*. 73
- et **Viala, P.**, Sur un nouveau groupe de Champignons, les Borétinées, et sur le *Bornetina corium* de la Phthiriose de la vigne. 296
- Marshall, Charles E.**, A preliminary note on the associative action of bacteria in the souring of milk. (*Orig.*) 739
- Matruchot, L.**, Application d'un caractère d'ordre éthologique à la classification naturelle. 65
- et **Mollard, M.**, Modifications produites par le gel dans la structure des cellules végétales. 27
- , Une Mucorinée purement conidienne, *Cunninghamella africana*. 65
- Mayor, Eug.**, Contribution à l'étude des Urédinées de la Suisse. 571
- Melsenheimer, Jakob**, Neue Versuche mit Hefepreßsaft. 229
- Mereshkowsky, S. S.**, Ein Apparat zum Erhalten von Wasserstoffgas auf elektrolytischem Wege mit automatischer Regulierung des Druckes des ausströmenden Gases. (*Orig.*) 716
- , Ueber die Einwirkung der Anilinfarben auf Invertin. (*Orig.*) 33
- Miquel, P. et Cambier, R.**, Traité de bactériologie pure et appliquée à la médecine et à l'hygiène. 227

- Möller**, Der Hausschwamm. 26
 —, A., Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden. 348
Molisch, H., Amöben als Parasiten in Volvox. 24
Mollard, M., siehe **Matruchot**, L.
 —, Rôle des bactéries dans la production des périthèces des Ascoboles. 153
Montemartini, L., *Uredo aurantiaca* n. sp., nuova Uredinea parassita delle Orchidaceae. 171
Münzer, E., Dauerhefe und Gärungsprobe. 707
Nathanson, A., Ueber eine neue Gruppe von Schwefelbakterien und ihren Stoffwechsel. 109
Neger, F. W., Ein Beitrag zur Mycorrhizafrage: Der Kampf um die Nährsalze. 350
Noell, A., *Aecidium Biscutellae* n. sp. 570
Omellanski, W. L., Ueber die Ausscheidung des Methans in der Natur bei biologischen Prozessen. (*Orig.*) 704
 —, Ueber die histologischen und chemischen Veränderungen in den Flachstengeln unter dem Einfluß der Bakterien der Pektin- und Cellulosegärung. (*Orig.*) 561
 —, Ueber die Trennung der Wasserstoff- und Methangärung der Cellulose. (*Orig.*) 369. 703
 —, Ueber die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben. (*Orig.*) 177. 256. 317
Osterwalder, A., *Gloeosporium*-Fäule bei Kirschen. (*Orig.*) 225
Palladin, W., Ueber normale und intramolekulare Atmung der einzelligen Alge *Chlorothecium saccharophilum*. (*Orig.*) 146
Pammel, L. H., **Weems**, J. B., **Lamson-Scribner**, F., The grasses of Iowa. 72
Peter, A., Eine einfache elektrische Heizung für Brutkasten. (*Orig.*) 688
Petri, L., Di un nuovo bacillo capsulato e del significato biologico delle capsule. 347
 —, Ricerche sul genere *Streptothrix*. 704
Pollak, Alfred, Praktische Methode zur Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit von Malzpräparaten. 77
Preuss, Paul, Ueber Pflanzenschädlinge in Kamerun. 573
Prior, E., Hefe als Reagens in der Nahrungsmittelchemie. 713
Prunet, Sur une maladie des rameaux du figuier. 576
Ray, Julien, Etude biologique sur le parasitisme. *Ustilago maydis*. 233
Reinke, J., Symbiose von Volvox und Azotobacter. 712
Reuss, Hermann, Die Besenpfrieme (*Spartium scoparium* L.), die Amme(?) der Fichte. 351
Richter von Binnenthal, Fr., Die Rosenschädlinge aus dem Tierreiche, deren wirksame Abwehr und Bekämpfung. 361
Rick, Josef, Zur Pilzkunde Vorarlbergs. 236
Ritzema Bos, J., Der Brand der Narzissenblätter. 578
Rodella, Antonio, Einige Bemerkungen zu dem Aufsatz von Dr. Ed. v. Freudenreich: „Ueber das Vorkommen der streng anaëroben Buttersäurebacillen und über andere Anaërobenarten bei Hartkäsen.“ (*Orig.*) 744
 —, Einiges über die Biologie der Käseanaëroben. (*Orig.*) 452
Ruata, Guido Q., Quantitative Analyse bei der bakteriologischen Diagnose der Wässer. (*Orig.*) 220. 287
Sajó, Karl, Neues über die Apfelmotte. 360
Salmon, E. S., *Cercosporites* sp., a new fossil fungus. 170
 —, Gooseberry mildew in Europe. 578
 —, Infection powers of ascospores in Erysiphaceae. 69
Samkow, S., Zur Physiologie des *Bacillus prodigiosus*. (*Orig.*) 305
Sarcoti, L., siehe **Ulplani**, C.
Sawamura, S., On the liquefaction of mannan by microbes. 21
Scalia, G., Di una nuova malattia dell'*Asclepias curassavica* Spr. 71
Schaudinn, Fr., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus Bütschlii* n. sp. 337
 —, Beitrag zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. II. *Bacillus sporonema* n. sp. 339
Schneidewind, Versuche mit dem Stalldünger-Bewahrungsmittel Patent Dr. Rippert. 715
Schönfeld, F., Einige Beobachtungen aus der Praxis über die Quellen wilder Hefeninfektionen. 14
 —, „Kochende“ Gärung bei Berliner

- Weißbier. Eine Folge von Verwendung von forciertem Weizenmalze. 14
- Schoofa, siehe Katteln.
- Schorler, B., Beiträge zur Verbreitung des Moschuspilzes. 352
- Schrenk, Hermann v., The „Bluing“ and the „Red Rot“ of the Western Yellow Pine, with special reference to the Black Hills Forest Reserve. 171
- Schroeder, Max, Beiträge zur Kenntnis der Stoffwechselprodukte des *Bac. lact. aërogenes*. (Orig.) 732
- Schulze, C., Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwicklung der Pflanzen. 716
- Selfert, W., Ueber die Vergärung von Zitronensäure als Ursache einer Erkrankung des Johannisbeerweines. 348
- Sewerin, S. A., Gips als ammoniakbildende Substanz bei der Verrottung des Stallmistes. (Orig.) 389. 442
- , Ueber eine neue in Butter Aroma bildende Bakterienart. (Orig.) 202. 260
- Siedentopf, H. und Zsigmondy, R., Ueber Sichtbarmachung und Größendestimmung ultramikroskopischer Teilchen, mit besonderer Anwendung auf Goldrubingläser. 74
- Smith, Greig R., Der bakterielle Ursprung der Gummarten der Arabingruppe. (Orig.) 698
- Soli, G., Malattie della vite causate da parassiti animali. 73
- Sollied, Peter Ravn, Studien über den Einfluß von Alkohol auf die an verschiedenen Brauerei- und Brennereimaterialien sich vorfindenden Organismen, sowie Beschreibung einer gegen Alkohol sehr widerstandsfähigen neuen *Pediococcus*-Art (*Pediococcus Hennebergi* n. sp.). 708
- Sorauer, Paul, Ueber Frostbeschädigungen am Getreide und damit in Verbindung stehende Pilzkrankheiten. 362
- Souza da Camera, M. de, siehe d'Almeida, J. V.
- Spegazzini, C., *Mycetes Argentinenses*. 71
- Spleckermann, A., siehe König, J.
- Spiegel von und zu Peckelsheim, Frhr. Hühnereintrieb gegen Kiefernspanner in der Oberförsterei Kielau. 588
- Stäger, Rob., Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden *Claviceps*-Arten. 297
- Stålström, Axel, Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung steriler und in Gärung befindlicher organischer Stoffe auf die Löslichkeit der Phosphorsäure des Tricalciumphosphats. (Orig.) 724
- Stewart, F. C., and Harding, H. A., Combating the black rot of cabbage by the removal of affected leaves. 587
- Störmer, K., Die Tätigkeit der Bakterien bei der Flachs- und Hanfröste. 66
- Strunk, H. F., siehe Appel, Otto.
- Stüchting, H., Kritische Studien über die Knöllchenbakterien. (Orig.) 377. 417. 496
- Thiele, R., Beiträge zur Methodik der Bodenforschung. (Orig.) 251
- Thlery, G., De la signification des bacilles violets dans les eaux d'alimentation. 562
- Thro, W. C., Distinctive characteristics of the species of the genus *Lecanium*. 73
- Tillmanus, J., siehe König, J.
- Tranzschel, W., Versuche mit heteröcischen Rostpilzen. (Vorl. Mitt.) (Orig.) 106
- Trolli-Petersson, Gerda, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. (Orig.) 120. 207
- Trost, C., Erfahrungszahlen zum Gebrauche bei der Bekämpfung des Kiefernspinners (*Gastropacha pini*). 300
- Tubeuf, C. v., Hausschwammfrage. 25
- , Zur Kenntnis des Pfeifengrases (*Molinia caerulea*). 170
- Ulpiani, C., e Sarcoli, L., Sulla fermentazione alcoolica del mosto di fico d'India. 343
- Utz, Beiträge zur Kenntnis der spontanen Gerinnung der Milch. (Orig.) 600. 733
- Vejdovsky, F., Ueber den Kern der Bakterien und seine Teilung. (Orig.) 481
- Viala, P., siehe Mangin, L.
- Voglino, P., Sulla batteriosi delle lattughe. 576
- Ward, Marshall, Further observations on the brown rust of the bromes, *Puccinia dispersa* (Eriks.) and its adoptive parasitism. 569
- Weems, J. B., siehe Pammel, L. H.
- Wels, Fr., Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). 341
- Zassouchine, O., siehe Kollegorsky, E.
- Zederbauer, Emerich, *Myxobacteriaceae*, eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien. 22
- Zikes, Heinrich, Die Wachstumserscheinungen von *Bacterium Zopfii* auf Peptongelatine. (Orig.) 59
- , Ein neuer kleiner Schüttelapparat für gärungsphysiologische Arbeiten. (Orig.) 107
- Zsigmondy, R., siehe Siedentopf, H.

II. Namen- und Sachregister.

- Actinomyces* „Peterson“, Vorkommen in Eisenwässern, Eisenspeicherung. 219
Aecidium Biscutellae n. sp. Noelli auf *Biscutella laevigata*. 570
Aelchen, Wirt von *Protascus tubuliformis*. 108
Aethylaldehyd, Verhalten der Hefe. 344
Aërobacter coli var. *infusionum*, Vorkommen bei der Sulfatreduktion. 88
Agromyza Kiefferi auf *Cytisus albus*, Gallenbildung. 581
 — *pulicaria* auf *Sarothamnus scoparius*, Gallenbildung. 581
Alkohol, Einfluss auf die an Brauerei- und Brennereimaterialien sich vorfindenden Organismen. 708
Alternaria-Arten, Ursache einer Getreidekrankheit. 362
Altica ampelophaga, Bekämpfung mittels des *Sporotrichum globuliferum*. 237
Amanita citrina, Gehalt an Erepsin. 231
 — *muscaria*, Gehalt an Erepsin. 230
Ambrosinia Bassii, Wirt von *Entyloma Dietelianum* n. sp. Bubak. 355
Ameisensäure, Zersetzung durch Mikroben. 177. 256. 317
Amerosporium platense auf *Manihot carthagenensis*. 71
Amöben, Parasiten in *Volvox*. 24
Andricus Sieboldi auf *Quercus pedunculata*, Gallenbildung. 581
Anilinfarben, Einwirkung auf *Invertin*. 33
Anthomyia brassicae, Vorkommen in Dalmatien. 25
 — *conformis*, Schädling der Zuckerrübe. 583
Anthophysa vegetans O. F. Müller, Eisen- und Manganspeicherung. 218
 — — —, Kultur. 217
Apfelmotte siehe *Carpocapsa pomonana*.
Aphis amygdali, Vorkommen in Dalmatien. 25
 — *cerasi*, Vorkommen in Dalmatien. 25
 — *persicae*, Vorkommen in Dalmatien. 25
Apion scutellare auf *Ulex europaeus*, Gallenbildung. 581
Apparat zum Erhalten von Wasserstoffgas auf elektrolytischem Wege. 796
Araceen, Pflanzenschädlinge in Kamerun. 574
Aromabildung in Butter durch Bakterien. 202. 260
Arsen, biologischer Nachweis. 237
Aschenbestandteile des Organismus, Ersetzbarkeit der einzelnen. 15
Aschersonia flavocitrina n. sp. Hennings auf Blättern von *Psidium*. 359
Asclepias curassavica Spr., Krankheit. 71
Ascobolus, Rolle der Bakterien bei der Perithezienbildung. 153
Ascochyta-Arten, Ursache einer Getreidekrankheit. 362
Ascochyta alstoniae n. sp. Hennings auf Blättern von *Alstonia scholaris*. 359
 — *coffae* n. sp. Hennings auf Kaffeeblättern. 359
 — *graminicola* n. var. *aciliolata* auf *Lolium italicum*, *perenne* u. *Festuca pratensis*. 71
Ascomyceten, Hilfsbuch für das Sammeln. 565
Ascusform des *Aspergillus fumigatus*. 331
Aspergilloides, Morphologie. 296
Aspergillus fumigatus, *Ascusform*. 330
Asphalt, vegetationsschädlich. 28
Assimilation von Kohlensäure, Einfluß von Formaldehyd. 345
Asterina hyphaster n. sp. Hennings auf Blättern von *Malvastrum*. 359
Asterolecanium massalongoianum auf *Hedera helix*, Gallenbildung. 579. 580
Atmung, normale und intramolekulare von *Chlorothecium saccharophilum*. 146
Auerswaldia quercina auf *Quercus humilis*. 71
Aulax hieracii auf *Hieracium umbellatum*, Gallenbildung. 579. 581
 — *hypochoeridis* auf *Hypochoeris radicata*, Gallenbildung. 581
 — *Latreillei* auf *Glechoma hederacea*, Gallenbildung. 581
Auricularia mesenterica Dieks. auf *Tilia*. 571
Azotobacter chroococcum, stickstoffbindend, Vorkommen in der Ostsee. 347
 —, Symbiose mit *Volvox globator*. 712
Bacillus acidi lactici, Infektion von Seidenraupen. 671
 — — —, Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 677
 — — — (*Esten*), Vorkommen im Käse. 642
 — — *laevolactici* (Schardinger), Ursache der spontanen Gerinnung der Milch. 620. 733
 — *Aderholdi* n. sp. Henneberg, Vorkommen im fadenziehenden Sauregurkensaft. 166
 — *amylobacter*, Vorkommen im Käse. 455

- Bacillus amyloporus* n. sp. Hefferan, Biologie (Pigmentbildung). 401
 — *aromaticus* butyri, in Milch Aroma bildend. 261
 — —, Kulturmerkmale. 204
 — —, Morphologie. 206
 — — n. sp. Sewerin, in Butter Aroma bildend. 202. 260
 — Beijerinck n. sp. Henneberg, Vorkommen in Kartoffelmaische. 159
 — *brassicae fermentatae* n. sp. Henneberg, Vorkommen im Sauerkohl. Biologie. 167
 — Buchneri n. sp. Henneberg, Vorkommen in Preßhefe; Biologie. 163
 — Bütschlii, Vorkommen in *Planeta orientalis*. 337
 — — n. sp. Schaudinn; Morphologie. 337
 — — n. sp. Schaudinn, Sporenbildung. 338
 — *butyricus*, Vorkommen im Käse. 642
 — *capsulatus* Trifolii, Kapselbildung. 348
 — — — n. sp. Petri, Morphologie. 347
 — *cloaceae* Jordan, Vorkommen in Iowa. 73
 — *coli communis*, Vorkommen im Käse. 642
 — *cucumeris fermentati* n. sp. Henneberg, Vorkommen und Wirkung bei der Sauregurkengärung. 166
 — Delbrücki, Vorkommen in Preßhefe. 161
 — — Beijerinck, Identität mit B. Delbrücki Leichmann. 156
 — — (Leichm.), Morphologie und Biologie. 154
 — — —, Säurebildung. 155
 — — —, Vorkommen im Mageninhalt. 170
 — *denitrificans fluorescens* a, n. sp. Christensen, Morphologie und Biologie. 191
 — — b, n. sp. Christensen, Morphologie und Biologie. 193
 — *ellenbachensis* a Caron, Stickstoff-assimilation. 712
 — *fasciformis*, Vorkommen in hellem Lagerbier. 157
 — *fermentum* Beijerinck, Säurebildung. 157
 — *ferrugineus*, Zersetzung der Cellulose. 694
 — *flacheriae* (Hofmann), Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 677
 — — —, Pathogenität für Seidenraupen. 669
 — — —, Verhalten im Leibe von Seidenraupen. 753
 — *fluorescens liquefaciens*, Vorkommen im Käse. 652
Bacillus fuchsianus (Boekhout und De Vries), Biologie (Pigmentbildung). 402
 — *fulvus*, Vorkommen im Käse. 642
 — *halofaciens*, Vorkommen im Käse. 642
 — *havaniensis* (Sternberg), Biologie (Pigmentbildung). 404
 — Hayducki n. sp. Henneberg, Vorkommen in Preßhefe. Biologie. 163
 — *kiliensis* (Breunig), Morphologie und Biologie (Pigmentbildung). 399
 — *lactis acidii*, Biologie. 153
 — — — Leichm., Vorkommen und Wirkung im Sauerteige. 168
 — — *aërogenes*, Stoffwechselprodukte. 732
 — — —, Vorkommen im Käse. 642
 — — *erythrogenes* (Hueppe), Biologie (Pigmentbildung). 456
 — *lactorubefaciens* (Gruber), Biologie (Pigmentbildung). 457
 — *latericeus* (?) (Adametz), Biologie (Pigmentbildung). 459
 — Leichmanni I n. sp. Henneberg, Vorkommen in Preßhefe, Biologie. 163
 — — II n. sp. Henneberg, Vorkommen in Preßhefe; Biologie. 164
 — — III n. sp. Henneberg, Vorkommen in Preßhefe; Biologie. 164
 — Lindneri, Vorkommen im Biere. 158
 — *Listeri* n. sp. Henneberg, Säuerungsvermögen. 162
 — — — —, Vorkommen in Preßhefe. 161
 — Maerckeri n. sp. Henneberg, Vorkommen in Getreidemaische. Biologie. 165
 — *megatherium* de Bary, Stickstoff-assimilation. 712
 — *mesentericus ruber* (Globig), Biologie (Pigmentbildung). 461
 — — *vulgatus*, verflüssigende Wirkung. 21
 — *miniaceus* (Zimmermann), Biologie (Pigmentbildung). 400
 — *mycoides*, Wachstum. 61
 — *corallinus* n. sp. Hefferan, Biologie (Pigmentbildung). 459
 — *roseus* (Scholl), Biologie (Pigmentbildung). 458
 — *oedematis maligni*, Vorkommen im Käse. 455
 — *panis fermentati* n. sp. Henneberg, Vorkommen und Wirkung im Sauerteige. 168
 — *plymouthensis* (Fischer), Biologie (Pigmentbildung). 399
 — *polychromogenes*, Pigment. 296
 — *prodigiosus*, Einfluß verschiedener Nährlösungen auf die Pigmentbildung. 307
 — —, anaërobes Leben. 309

- Bacillus prodigiosus*, Physiologie. 305
 — —, Untersuchung des Pigmentes. 308
 — —, verflüssigende Wirkung. 21
 — — (Ehrenberg), Morphologie und Biologie (Pigmentbildung). 315. 397
 — — Flügge, Vorkommen in Milch. 200
 — *putrificus* Bienstock, Vorkommen im Käse. 455
 — *radicicola* Beyer., Vorkommen in den Wurzelknöllchen von *Spartium scoparium*. 351
 — *rubefaciens* (Zimmermann), Biologie (Pigmentbildung). 457
 — *ruber* (Miquel), Biologie (Pigmentbildung). 402
 — — (Zimmermann), Biologie (Pigmentbildung). 404
 — — *balticus* (Kruze), Biologie (Pigmentbildung). 400
 — — *indicus* (Koch), Biologie (Pigmentbildung). 398
 — *rubricus* n. sp. Hefferan, Biologie (Pigmentbildung). 403
 — *rubropertinctus*, Biologie (Pigmentbildung). 460
 — *rufus* n. sp. Hefferan, Biologie (Pigmentbildung). 403
 — *rugosus* Ellis, siehe *Bacterium rugosum* Henrici.
 — *rutilescens* n. sp. Hefferan, Biologie (Pigmentbildung). 458
 — *rutilus* n. sp. Hefferan, Biologie (Pigmentbildung). 401
 — *Secalis*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *Sorghi* Burill, Vorkommen in Iowa. 73
 — *sporonema* n. sp. Schaudinn, Morphologie. 339
 — — n. sp. Schaudinn, Sporenbildung. 340
 — *subtilis*, Vorkommen im Käse. 642
 — —, — in gekochtem Reis. 294
 — — (Cohn), Stickstoffassimilation. 712
 — *vascularum* Cobb., Vorkommen in Iowa. 73
 — *Wehneri* n. sp. Henneberg, Vorkommen in Melasse; Biologie. 165
 — *Wortmanni* n. sp. Henneberg, Vorkommen in Preßhefe. Morphologie. 162
Bacterium Acaciae, Erzeugung von Säuren. 698
 — —, Rolle beim Gummifluß. 699
 — *acidi lactici* (Hueppe), Ursache der spontanen Gerinnung der Milch. 620. 733
 — — — (Hueppe), Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 201
 — *brassicae acidae*, Erreger der Sauerkrautgärung. 540
 — — *Wehmer*, Erreger der Sauerkrautgärung. 540
Bacterium cerinum Henrici, Nachweis von Cilien. 248
 — *coli commune* (Escherich), Vorkommen in frisch gemolkener Milch. 201
 — *curvatum* n. sp. Troili-Petersson, Vorkommen im Käse. 137
 — *dimorphum* n. sp. Troili-Petersson, Vorkommen im Käse. 131
 — *filamentosum* (E. Klein) Burchard, Nachweis von Cilien. 246
 — (Filatoff) aus dem Blute von *Periplaneta orientalis*, Kultur. 667
 — — aus dem Blute von *Periplaneta orientalis*, Morphologie. 668
 — — aus dem Blute von *Periplaneta orientalis*, Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 680
 — — aus dem Blute von *Periplaneta orientalis*, Verhalten in deren Körper. 756
 — *formicum*, Gärungsversuche. 187
 — —, Milchsäurebildung bei Mannitgärung. 323
 — —, Morphologie. 183
 — —, Verhalten gegen normale Buttersäure. 259
 — —, — gegen Dulcit. 324
 — —, — gegen Essigsäure. 259
 — —, — gegen Kohlehydrate. 317
 — —, — gegen Mannit. 319
 — —, — gegen Oxalsäure. 259
 — —, — gegen Propionsäure. 259
 — —, Wachstum auf verschiedenen Nährböden. 185
 — — n. sp. Omelianski, Ameisensäure zersetzend. 177. 256. 317
 — *gammari* n. sp. Vejdovský, Structur, Kern. 483
 — *Güntheri*, Erreger der Sauerkrautgärung. 540
 — — n. sp. Aderhold, Identität mit *Bacill. cucumeris fermentati* n. sp. Henneberg. 167
 — *hirtum* Henrici, Nachweis von Cilien. 243
 — *lactis aërogenes* (Escherich), Vorkommen in Milch. 201
 — *levaniformans*, Rolle beim Gummifluß. 700
 — *luteum* (Zimmermann), Vorkommen in Milch. 200
 — *metarabinum*, Erzeugung von Säuren. 698
 — —, Rolle beim Gummifluß. 699
 — *monachae* (Tubeuf), Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 677
 — — —, Pathogenität für Seidenraupen. 672. 674
 — — —, Verhalten im Leibe von Seidenraupen. 751

- Bacterium parabinum* n. sp. Smith, Morphologie und Biologie. 701
 — — n. sp. Smith, Rolle beim Gummifluß von *Sterculia diversifolia*. 700
 — *Persicae* n. sp. Smith, Morphologie und Biologie. 702
 — — n. sp. Smith, Rolle beim Gummifluß. 699
 — *prodigosum* (Ehrenberg), Vorkommen in Milch. 200
 — *radicola*, Virulenz. 424
 — *rugosum* Henrici, Nachweis von Cilien. 247
 — (Severin) aus einer an Flascherie gestorbenen Seidenraupe, Infektion von Seidenraupen. 671
 — — aus einer an Flascherie gestorbenen Seidenraupe, Kultur. 665
 — — aus einer an Flascherie gestorbenen Seidenraupe, Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 677
 — — aus einer Larve der *Ocneria dispar*, Infektion von Seidenraupen. 673
 — — aus einer Larve der *Ocneria dispar*, Kultur. 666
 — — aus einer Larve von *Ocneria dispar*, Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 677
 — *tomentosum* Henrici, Nachweis von Cilien. 245
 — *violaceum*, Vorkommen in spontan geronnener Milch. 619
 — Zopfii, Wachstumserscheinungen. 59
 Bakterien, anaërobe, Vorkommen in Hartkäsen. 327
 — —, Vorkommen im Käse. 452
 — im Boden, Einfluß auf das Gedeihen der Pflanzen. 350
 — in fadenziehendem Brot, Morphologie. 62
 — in fadenziehendem Brot, Wachstum auf verschiedenen Nährböden. 63
 —, Einwirkung auf die Löslichkeit der Phosphorsäure des Tricalciumphosphats. 724
 —, Ernährung im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle. 593
 —, farbstoffbildende, Vorkommen in Quellwasser. 721
 —, Kernteilung. 481
 —, Knöllchen-, kritische Studien. 377. 417. 496
 —, Nachweis im Boden. 251
 — — von Cilien. 241
 —, rotes Pigment produzierend, Biologie. 311. 397. 456. 520
 — — — —, Einfluß des Lichtes auf die Pigmentbildung. 525
 — — — —, Einfluß des Nährbodens auf die Pigmentbildung. 468. 520
 — — — —, Einteilung in Gruppen. 462. 529
 Bakterien, Rolle bei der Perithecieneubildung von *Ascobolus*. 153
 —, Säuerung der Milch. 739
 —, stickstoffbindende aus der Ostsee. 347
 —. Sulfatreduktion. 81. 113
 —, Tätigkeit bei Flachs- und Hanfröste. 66
 —, Untersuchung derselben im Wasser. 220. 287
 —, Ursache krankhafter Veränderungen des Johannisbeerweines. 346
 —, — von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
 —, Verhalten zum Organismus von *Bombyx* und *Periplaneta*. 658. 748
 —, violette, Vorkommen in Wasser. 562
 —, Vorkommen im Bade- und Trinkwasser. 562
 —, — in schwedischem Güterkäse. 129
 —, — auf Lattich. 576
 —, — in der Milch. 564
 —, — in frisch gemolkener Milch. 195. 267
 —, — in Olivenöl. 232
 —, — in gekochtem Reis. 294
 —, — in Shoyu. 564
Baridius chloris, Vorkommen in Dalmatien. 25
 Basidiomyceten, Gehalt an Eriopsin. 230
Beggiatoa leptomitiformis, Vorkommen in Brunnenröhren. 353
 — — Trev., Vorkommen in Kühlröhren einer Spritfabrik. 352
 Bekämpfung des Rebenflohs (*Altica ampelophaga*). 237
 Beschädigung d. Vegetation durch Rauch. 27
 Besenpfrieme siehe *Spartium scoparium*.
 Bestäubung, vorzeitige, Resultate. 300
 Bier, Milchsäurebakterien. 157
 Bierhefe siehe Hefe.
Biscutella laevigata, Wirt von *Alcidium Biscutellae*. 570
Bixadus sierricola siehe *Monorhammus sierricola*.
 Blätterschwämme, Vorkommen in Baumstämmen. 577
 Blaufärbung des Kiefernholzes, verursacht durch *Ceratostomella pilifera*. 171
Bliridium subtropicum Wint. var. *microspermum* Hennings auf einer *Melastomataceae*. 359
 Bockkäfer siehe *Monorhammus sierricola*.
 Bodendurchlüftung, Wirkung in Bezug auf Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge. 717
 Bodenforschung, Methodik. 251
 Bodensterilisation, Einwirkung auf die Entwicklung der Pflanzen. 716

- Bohnenmehl, Auffindung durch Sero-
 diagnostik. 9. 48
Bombyx mori (L.), Infektion mit einigen
 Bakterienarten. 658. 748
 Bordeauxbrühe, Wirkung auf Sporen.
 172
 —, — und Verwertung als Pflanzen-
 schutzmittel. 717
Bornetina corium, Morphologie. 297
 —, —, Ursache einer Rebenkrankheit
 in Palästina. 296
Botrychus dispar, Vorkommen in Dal-
 matien. 25
Botryodiplodia cacaoicola, Vorkommen
 in Kamerun. 575
Botrytis cinerea, Gewicht einer Spore.
 586
 —, —, Lebensfähigkeit der Sporen. 584
 —, —, Wirkung von Bordeauxbrühe. 172
 —, —, von Calciumbisulfit auf die
 Sporen. 585
 — *hormini* n. sp. Farneti, Formenkreis.
 567
 — — n. sp. Farneti, Vorkommen auf
Salvia hormini n. sp. 566
 — (*vulgaris*?), Ursache einer Feigen-
 krankheit. 576
 — *vulgaris* Fr., Ursache der Zersetzung
 der Cellulose. 696
Brachybacterium apiculatum n. sp. Troili-
 Petersson, Vorkommen im Käse. 141
 Brachybakterien, Vorkommen im schwe-
 dischen Güterkäse. 138
 Brand der Narzissenblätter, Ursache. 578
 Braunrost der *Bromus*-Arten, Erreger.
 578
Bromeliaceen, epiphytische, Pflanzen-
 schädlinge in Kamerun. 574
Bromus-Arten, Ursache des Braunrostes.
 578
 —, Wirte von *Puccinia dispersa*. 570
 Brutkasten, elektrische Heizung. 686
 Butter, Aromabildung durch Bakterien.
 202. 260
 Buttersäurebacillen, Vorkommen in
 Hartkäsen. 327. 744
 C siehe auch Z.
 Calcium, Bedeutung für die Bildung d.
 Chlorophyllapparate. 19
 —, Bedeutung in der Brauerei. 17
 —, Ersetzbarkeit im Organismus. 15
 Calciumbisulfid, Wirkung auf Sporen.
 172
Camentaart, Pflanzenschädling in Kame-
 run. 574
Capnodiopsis mirabilis Hennings (n. gen.
Capnodiacearum), Vorkommen in S.
 Paulo. 359
Capnodium salicinum Mont., Morpho-
 logie. — 577
Carpocapsa pomonana, Bekämpfung. 360
Castanea vesca, Krankheit. 73
Cecidomyide auf *Ephedra distachya*,
 Gallenbildung. 581
Cedrela australis, Gummifluß. 699
 Cellulose, Trennung der Wasserstoff-
 und Methangärung. 703
 —, Wasserstoff- und Methangärung. 369
 —, Zersetzung durch aerobe Mikroorga-
 nismen. 689
 —, — durch *Bacillus ferrugineus*. 694
 —, — durch denitrifizierende Bakterien.
 690
 —, — durch Schimmelpilze. 695
 Centrifugalkraft, Einfluß auf *Bacillus*
mycoides. 61
 —, — auf *Bact. Zopfii*. 61
Ceratostomella pilifera (Fr.) Winter,
 Ursache der Blaufärbung des Kiefern-
 holzes. 171
Cercospora asclepiadis n. sp. Hennings
 auf Blättern von *Asclepias*. 359
 — *Bizzozzeriana* n. var. *Drabae* auf *Le-*
pidium Draba. 71
 — *Cajani* n. sp. Hennings auf Blättern
 von *Cajanus indicus*. 359
 — *depazeoides* n. var. *amphigena* auf
Sambucus nigra. 71
 — *filicum* n. sp. Hennings auf Blättern
 von *Nephrodium*. 359
Cercospora *Chaerophylli* Aderh. auf
Chaerophyllum temulum. 571
Cercosporites *Salmon*, Vorkommen im
 mittleren Miocän Siciliens. 170
Ceratomyces albus (Corda) Sacc., Vor-
 kommen in Proskau. 571
Centrorrhynchus atomus auf *Sisymbrium*
thalianum, Gallenbildung. 581
 — *pleurostigma* auf *Brassica oleracea*,
 Gallenbildung. 581
Chaetomella horrida Oud., Ursache der
 Zersetzung der Cellulose. 695
Chaetomium Kunzeanum Zopf, Ursache
 der Zersetzung der Cellulose. 695
Chalymotta campanulata, Ueberführung
 der Oidienform in die höhere Frucht-
 form. 354
Chermes abietis auf *Picea excelsa*, Gallen-
 bildung. 579. 580
Chlamydothrix ferruginea (Ehrenberg)
Migula v. *Gallionella ferruginea*
 Ehrenberg. 277
 Chlor, vegetationsschädlich. 28
Chlorops taeniopus, Schädling des Ge-
 treides. 584
Chlorothecium saccharophilum, Atmung.
 146
Chondromyces glomeratus n. sp. Zeder-
 bauer, Entwicklung und Bau. 22
Chrysomyxa Woronini Tranzschel, Vor-
 kommen auf *Ledum palustre*. 106
 Cilien, Nachweis beim genus *Bacterium*.
 241

- Cladosporium*, Ursache von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
Cladosporium herbarum (Pers.) Link. Ursache der Zersetzung der Cellulose. 696
 — —, Ursache einer Getreidekrankheit. 362
 — — (Pers.) Lk., Vorkommen in Iowa. 72
Cladotrix dichotoma, Vorkommen in Brunnenröhren. 353
 — —, — in verschmutztem Flußwasser. 353
 — — Cohn, Kultur. 217
*Claviceps*arten, Infektionsversuche. 297
Claviceps microcephala Tul., Infektionsversuche. 298
 — *purpurea* Tul., Uebertragbarkeit auf verschiedene Gräser. 297
 — — (Fr.) Tul., Vorkommen in Iowa. 72
 — *Wilsoni* Cooke, Infektionsversuche. 299
Clostridium giganteum n. sp. Benecke u. Keutner, stickstoffbindend, Vorkommen in der Ostsee. 347
 — *pastorianum*, stickstoffbindend, Vorkommen in der Ostsee. 347
Coccide auf *Potentilla hirta* var. *pedata*, Gallenbildung. 579. 580.
Coccus, saprophytischer, Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 680
Coepophagus echinopus an den Wurzeln des Weinstockes. 576
Coleophora Stefani auf *Atriplex halimus*, Gallenbildung. 581
Colletrichum theobromae n. sp. Appel u. Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 555
Collybia tuberosa, Kultur der Oidien und Ueberführung in die höhere Fruchtform. 355
 — *velutipes*, Kultur der Oidien und Ueberführung in die höhere Fruchtform. 354
Colpidium Colpoda, Vorkommen in Kühlröhren einer Spritfabrik. 352
Coniothyrium concentricum n. var. *Pincenectiae* auf *Nolina* (*Pincenectia*) *tuberculata*. 70
 — *diplodiella*, Lebensfähigkeit der Sporen. 584
 — —, Wirkung von Bordeauxbrühe. 172
Contarinia scoparii auf *Sarothamnus scoparius*, Gallenbildung. 580
 — *tiliarum* auf *Tilia silvestris*, Gallenbildung. 579. 580
Coprinus lagopagus, Ueberführung der Oidienform in die höhere Fruchtform. 354
 — *sterquilinus*, Ueberführung der Oidienform in die höhere Fruchtform. 354
Corymbomyces albus n. gen. et sp. Appel u. Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 632
Coryneum Beyerinckii Ord. auf *Amygdalus persica* et *Armeniaca vulgaris*. 299
Crenothrix polyspora Cohn, Vorkommen im Prager Leitungswasser. 216
Cronartium ribicolum auf Ribesarten. 571
Cunninghamella africana n. sp. Matruchot, Morphologie. 65
Cynipiden auf *Quercus suber*, Gallenbildung. 583
Cystopus mikaniae auf *Mikania phyllopoda*. 71
Dactylopius Vitis, Ursache einer Rebenkrankheit in Palästina. 296
 Darrmalz, geschrotenes, Einfluß von Alkohol auf die daran befindlichen Organismen. 708
Datura tatula, vorzeitige Bestäubung. 300
 Dauerhefe, Gärungsproben. 708
Dematium pullulans, Rolle bei der Zersetzung der Cellulose. 697
Dendroctonus micans, geschädigt durch *Rhizophagus grandis*. 360
 — — Kug., Vorkommen auf Fichten. 359
 — *ponderosae* Hopk., Vorkommen auf *Pinus ponderosa*. 171
 Denitrifikationsbakterien, neue fluoreszierende, Morphologie und Biologie. 190
 Diastase, Eigenschaften und Wirkung. 340
Didymaria prunicola Cav. auf *Amygdalus communis*. 572
 — *Trollii* Jacz. siehe *Ramularia Trollii* (Jacz.) Lindr.
Dilophia Sempervivi n. sp. Rick, Vorkommen in Vorarlberg. 236
Dimerosporium cantareirens n. sp. Hennings auf Blättern einer *Myrsine*. 359
 — *gnaphalii* n. sp. Hennings auf Blättern von *Gnaphalium*. 359
 — *paulense* n. sp. Hennings auf Blättern von *Baccharis*. 359
Diospyros, Gummifluß. 700
Diplodia cacaoicola, Vorkommen in Kamerun. 575
 — *punctifolia* n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Magnolia*. 71
Diplodina corticola n. sp. Appel und Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 551
 — *Juglandis* Brun. auf *Juglans regia*. 70

- Diptere auf *Brachypodium silvaticum*, Gallenbildung. 579. 580
Discella cacaicola n. sp. Appel u. Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 554
Dothidella Arechavaletae auf *Ocotea acutifolia*. 71
 — *platensis* auf *Paspalum platense*. 71
 Dünger s. Stalldünger.
 Durchbohrungen von Blättern, Ursache. 299
 Eisenbakterien, Beziehung zu natürlichen Eisenwässern. 215. 277
 Eisenwässer, Beziehungen der Eisenbakterien. 215. 277
 —, mangelnde Haltbarkeit. 282
 Eismilch, Keimzahl, Genußfähigkeit. 69
 Eiweißbildung der Pflanzen, Einfluß des Lichtes. 409
 Eiweißgehalt der Zellen, Zunahme nach Verwundungen. 172
 Entkeimen der Kindermilch mittels des Pasteurisierapparates von Kobrak. 715
Entyloma Ameghinoi auf *Ranunculus Cymbalaria*. 71
 — *Dietelianum* n. sp. Bubak auf den Blättern von *Ambrosinia Bassii*. 355
 Enzyme, proteolytische in keimender Gerste. 341
 — von *Monilia candida*, Untersuchung. 706
 — von Milchzuckerhefe, Untersuchung. 707
 —, Vorkommen in keimenden Samen. 67
 Enzymforschung, Anwendung auf die Essiggärung. 342
Epichloë typhina (Pers.) Tul., Vorkommen in Iowa. 72
Epicoccum eucalypti n. sp. Hennings auf Blättern von *Eucalyptus pulverulentus*. 359
 — *ligustri* n. sp. Hennings auf Blättern von *Ligustrum vulgare*. 359
 — *microscopicum* n. sp. Hennings auf Grasblättern. 359
 — *purpurascens* Ehrenb., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 696
 Erbsen, Wasserkultur. 1
 Erbsenmehl, Auffindung durch Serodiagnostik. 9. 48
Erepsin, Vorkommen in *Basidiomyceten*. 230
Eriophyes pini auf *Pinus silvestris*, Gallenbildung. 579. 580
 Ernährung von Bakterien im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle. 593
Erysiphe graminis DC, Vorkommen in Iowa. 72
 Erysipheen, Infektionsversuche mit Askosporen. 69
 Essiggärung, Rolle der Enzyme. 342
Eupenicillia, Morphologie. 296
Eurotium glaucum, Ursache von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
Evetria resinella auf *Pinus silvestris*, Gallenbildung. 581
Excipula Schomburgkiae n. sp. Hennings auf Blättern von *Schomburgkia*. 359
 Fadenbakterium aus *Bryodrilus Ehlersi* Ude, Struktur, Kern. 488
 Fadenziehen des Brotes, Bakterien als Ursache. 61
 — — —, chemische Natur des fadenziehenden Körpers. 64
 — — —, chemische Veränderungen. 63
 — — —, Zersetzung des Klebers durch Bakterien. 63
 — — —, Zersetzung der Stärke durch Bakterien. 63
 Feigenkrankheit, verursacht durch *Botrytis vulgaris*. 576
 Feigenmost, alkoholische Gärung. 343
 Fichtenbastkäfer s. *Dendroctonus micans*. Kug.
 Flachsrost, bewirkt durch Bakterien. 66
 Flachsstengel, Veränderungen durch Bakterien. 561
 Fluornatrium, Einfluß auf die Feigenmostgärung. 343
 Fluorwasserstoffsäure, vegetationsschädlich. 28
 Formaldehyd zur Ernährung der Hefe. 343
 Fritfliege, Beziehung zum Stockälchen. 583
 Frost, Einfluß auf Pflanzenzellen. 27
 Frostbeschädigungen am Getreide, damit in Verbindung stehende Pilzkrankheiten. 362
 Fuchsin, Wirkung auf Hefe. 43
 —, — auf Invertin. 34
Fungi selecti exsiccati, Exsikkatenwerk von Otto Jaap. 294
 —, Vorkommen in San Paulo. 358
Fusarium aquaeductuum, Vorkommen in verschmutztem Flußwasser. 353
 — *gemmiperda* Aderh. auf der Weichselkirsche. 572
 — *nivale* Sor., Ursache einer Getreidekrankheit. 362
 — *theobromae* n. sp. Appel u. Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 635
 — *roseum* Lk., Vorkommen in Iowa. 72
Fusicladium, Obstschädling, Bekämpfung. 577
 Futter- und Nahrungsmittel, Zersetzung durch Kleinwesen. 61
 Gärung, alkoholische des indischen Feigenmostes, Einfluß von Natriumfluorid. 343
 — des Sauerkrautes, Erreger. 540

- Gärung, kochende d. Weißbieres, Fehlen der Schaumdecke. 14
 —, kochende d. Weißbieres, verursacht durch forciertes Weizenmalz. 14
 — Wasserstoff- und Methan- der Cellulose. 369
Galactococcus versicolor (Guillebeau), Vorkommen in Milch. 200
 Gallen, Ernährung des Gewebes. 578
 —, Vorkommen in Sardinien. 583
 —, — in Toscana. 583
 Gallenbildung, anatomische Untersuchung. 582
 Gallentiere, Veränderungen der Pflanzengewebe. 582
Gallionella ferruginea Ehrenberg, Vorkommen in Eisenwässern. 277
 — —, Eisenspeicherung. 280
 — —, Morphologie. 278
Gastropacha pini, Bekämpfung. 301
 Geotropismus, negativer von *Bact. Zopfii*. 60
 Gerinnung, spontane der Milch, Erreger. 600. 733
 Gerste, keimende, Gehalt an proteolytischen Enzymen. 341
 Getreide, Frostbeschädigungen. 362
 —, Krankheiten. 72. 584
Gibbellina cerealis Pass., Vorkommen in Iowa. 72
Gibberella tritici n. sp. Hennings auf Spelzen und Grannen von *Triticum spelta*. 359
 Gips als ammoniakbindende Substanz bei Verrottung des Stallmistes. 389. 442
Gloeosphaera ferruginea Rabenhorst s. *Gallionella ferruginea* Ehrenberg.
Gloeosporium aracearum n. sp. auf Blättern von *Caladium* u. *Philodendron bipinnatifidum*. 359
 — *hedericolum* Delacroix (n. sp.) auf *Hedera helix*. 299
 — (lacticolor Berk.?) Erreger der Kirschenfäule, Morphologie. 226
 — *ligustri* n. sp. Hennings auf Blättern von *Ligustrum vulgare*. 359
 — *nervisequum*, Ursache der Platanenkrankheit. 299
 — *phomoides* Sacc., Parasit der Tomate. 232
 — *truncatum* (Bon.) Sacc. auf *Vaccinium vitis idaea*. 572
 —, Vorkommen auf Ribesarten. 571
*Gloeosporium*fäule bei Kirschen. 225
Gloeotila ferruginea Kützing s. *Gallionella ferruginea* Ehrenberg.
 Glyoxal, Verhalten der Hefe. 344
Glyphodes ocellata, Schädling der Kautschukpflanzen in Kamerun. 575
 Gramineen, Krankheiten. 72
 Grünmalz, lebendes, Einfluß von Alkohol auf die daran befindlichen Organismen. 708
 Güterkäse, schwedischer, Mikroorganismen. 120. 207
 Gummiarten der Arabingruppe, bakterieller Ursprung. 698
 Gurken, saure, Wirkung von Milchsäurebakterien. 166
Gypsonoma aceriana auf *Populus alba*, Gallenbildung. 581
 Hanfröste, bewirkt durch Bakterien. 66
Harmandia petioli auf *Populus tremula*, Gallenbildung. 580
 Hartkäse, Vorkommen anaërober Bakterien. 327
 Hausschwamm siehe *Merulius*.
 Hefe, Bau und Fortpflanzung. 411
 —, Einfluß der Kohlehydraternährung auf den respiratorischen Quotienten. 95
 —, — der Temperatur auf die Entwicklungsgeschwindigkeit. 228
 —, Ernährung mit Formaldehyd. 343
 —, Nachweis wilder in Kulturhefe. 336
 —, Reagens in der Nahrungsmittelchemie. 713
 —, untergärige, biologische Analyse. 336
 —, Verhalten gegen Aldehyde. 344
 —, Vorhandensein eines Kernes. 707
 —, Wirkung von Fuchsin. 44
 Hefeninfektionen, Ursachen. 14
 Hefepreßsaft, Gärwirkung. 229
 Hefereinkultur, Herstellung. 107
 Heizung, elektrische für Brutkasten. 686
Helicoma bambusae n. sp. Hennings auf *Bambusa*. 359
 Helminthosporium-Arten, Zusammenhang mit *Pleospora*-Arten. 52
 — *turcicum* Pass., Vorkommen in Iowa. 72
Heterodera radicola, Vorkommen in Dalmatien. 25
 — *Schachtii*, Schädling des Getreides. 584
Heterosporium gracile Sacc., Ursache des Brandes der Narzissenblätter. 578
Hylobius abietis L., Verwendung von Terpentin beim Fange. 301
Hypholoma fasciculare, Gehalt an Erespisin. 231
 — —, Kultur der Oidien und Ueberführung in die höhere Fruchtform. 354
Hypocreella (*Hypoxylon* P. N.) Sacc., Vorkommen in Iowa. 72
Hyponomeuta malinella, Vorkommen in Dalmatien. 25
 Hülsenfruchtmehle, Auffindung durch Serodiagnostik. 8. 45

- Jassus sexnotatus*, Schädling des Getreides. 584
- Inesida leprosa*, Schädling der Kautschukpflanzen in Kamerun. 575
- Infektionsversuche mit Askosporen von *Erysipheen*. 69
- Invertin, Einwirkung von Anilinfarben. 33
- Johannisbeerweinerkrankung, verursacht durch Vergärung von Zitronensäure. 346
- Ithyphallus impudicus* an den Wurzeln des Weinstockes. 576
- Käse siehe Hartkäse, Güterkäse.
- , Bakteriengehalt bei Behandlung bei verschiedenen Temperaturen. 637
- , Bereitung. 125
- , Hart-, Vorkommen von anaëroben Buttersäurebacillen. 744
- , Lochbildung. 213
- , Ursache des Geruchs. 648
- , Untersuchungsmethode der Mikroorganismen. 126
- , Vorkommen anaërober Bakterien. 452
- Käsureifung, Wirkung der Mikroorganismen. 120. 207
- Kaffeekrankheit, verursacht durch *Stilbella flavida*. 356
- Kalium, Ersetzbarkeit im Organismus. 20
- Kartoffel, Einfluß von Alkohol auf die daran befindlichen Organismen. 709
- Kartoffelmaische, Milchsäurebakterien. 159
- Katalase, H_2O zerlegendes Enzym. 108
- Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
- Kern der Bakterien, Teilung. 481
- Kiefer, Mykorrhizabildung. 348
- Kiefernspanner, Bekämpfung durch Hühnertrieb. 588
- Kiefernspinner siehe *Gastropacha pini*.
- Kirschen, *Gloeosporium*-Fäule. 225
- Knöllchenbakterien, Arteinheit. 378
- , Beeinflussung der Virulenz außerhalb der Pflanze. 504
- , Beeinflussung der Virulenz während der Symbiose mit der Pflanze. 433
- , Biologie. 385
- , Immunitätstheorie. 387. 417
- , kritische Studien. 377. 417. 496
- , Stellungenverhältnisse der Knöllchen am Wurzelsystem und ihre Beziehung zur Virulenz. 428
- , Umwandlung in Bakteroiden. 381
- , Virulenz. 424
- Kohl, Bekämpfung der Schwarzfäule. 587
- Kohlehydrate, Bestimmung und Trennung der vergärbaren von den unvergärbaren mittels Hefe. 713
- Kohlehydrate, Einfluß auf den respiratorischen Quotienten bei Hefe. 98
- Kohlensäureassimilation, Einfluß von Formaldehyd. 345
- Kohlensäure, Einfluß auf die Vegetation. 562
- Kongorot, Wirkung auf Invertin. 39
- Kopulation des *Schizosaccharomyces mellacei*. 21
- Krankheiten des Getreides, mit Frostbeschädigung in Verbindung stehend. 362
- Krankheit der Kaffeebäume, verursacht durch *Stilbella flavida*. 355
- der Platanen, verursacht durch *Gloeosporium nervisequum*. 299
- des Rebstockes in Palästina, Ursache. 296
- — *Sesamum orientale*, durch Bakterien verursacht. 333
- — Tabaks (Mosaikkrankheit), Verbreitung. 405
- Krebsgeschwülste, verursacht durch *Merulius lacrimans*. 234
- Kulturmilchsäurebacillus, Vorkommen in Preßhefe. 161
- Kupfervitriol, Tötung der Befallpilze der Pferdebohnen. 587
- Laestadia coffeicola*, Beziehung zu *Stilbella flavida*. 356
- I. asioptera carophila* auf *Torilis Anthriscus*, Gallenbildung. 581
- *eryngii* auf *Eryngium campestre*, Gallenbildung. 581
- *rubi* auf *Rubus fruticosus*, Gallenbildung. 579
- Lasmenia machaerii* n. sp. Hennings auf Blättern von *Machaerium lanatum*. 359
- Lattichkrankheit, verursacht durch Bakterien. 576
- Lecanium cerasi*, Vorkommen in Dalmatien. 25
- , systematische Bestimmung. 73
- Lehrbuch der Bakteriologie von Miquel und Cambier. 227
- Leptomitus lacteus*, Vorkommen in verschmutztem Flußwasser. 353
- Leptopeziza pyrina* n. sp. Hennings an Zweigen von *Pirus communis*. 359
- Leptosphaeria Dracaenae* n. sp. d'Almeida und Souza da Camara auf *Dracaena Draco*. 70
- *Sorbi* n. sp. Jaczewski auf *Sorbi Aucuparia*. 24
- Leptothrix ochracea* Kützing, Kultur. 217
- *parasitica*, Vorkommen in verschmutztem Flußwasser. 353

- Leuchtgas, vegetationsschädlich. 28
 Licht, Einfluß auf die Eiweißbildung der Pflanzen. 409
 Limacina aurantii n. sp. Hennings auf Blättern von Citrus aurantium. 359
 Linsenmehl, Auffindung durch Sero-diagnostik. 9. 48
 Lipase, Vorkommen in der Milch. 231
 Lixus ochraceus, Vorkommen in Dalmatien. 25
 Lorantheen, Pflanzenschädlinge in Kamerun. 574
 Macrophoma edulis n. sp. d'Almeida und Souza da Camara auf Batatas edulis. 71
 Macrosporium Dianthi n. sp. d'Almeida und Souza da Camara auf Dianthus Caryophyllus. 71
 — eucalypti n. sp. Hennings auf Eucalyptus pulverulentus. 359
 — Geranii n. sp. d'Almeida und Souza da Camara auf Geranium sanguineum. 71
 —, Ursache von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
 Mageninhalt, Vorkommen von Milchsäurebakterien. 170
 Magnesium, Ersetzbarkeit im Organismus. 16
 Mais, Verhalten gegen Ustilago maydis. 234
 Maladie de l'encre, durch Mycelophagus verursachte Krankheit der Kastanien. 73
 Malz, proteolytische Enzyme. 341
 Malzdiastase, Eigenschaften und Wirkung. 340
 Malzpräparate, Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit. 77
 Mandelbaum, Gummifluß. 700
 Mannan, Verflüssigung durch Mikroben. 21
 Megatherium, Vorkommen im Käse. 652
 Melasse, Träger des Bacillus Wehmeri. 165
 Merulius als Parasit in lebenden Bäumen. 26
 —, Keimungsbedingungen. 26. 27
 — lacrimans, Erreger von Krebsgeschwülsten. 234
 —, Ueberwinterung. 26
 —, Vermehrungsorgane. 26
 —, Vorkommen im Freien. 26
 Methan, Ausscheidung bei biologischen Prozessen. 704
 Micrococcus aureus lactis, Vorkommen im Käse. 642
 — prodigiosus Cohn, Vorkommen in Milch. 200
 — varians lactis, Vorkommen im Käse. 642
 Microspira aestuarii Beijerinck, Sulfatreduktion in (See-)Wasser. 92. 113
 — —, Isolierung. 114
 — —, Verhalten gegen Kochsalz. 116
 — desulfuricans, Isolierung. 88
 — —, Sulfatreduktion in (Süß-)Wasser. 83
 — —, Verhalten gegen Kochsalz. 116
 Microthyrium cantareirens n. sp. Hennings auf Blättern einer Myrtacee. 359
 Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. 120. 207
 —, Nachweis im Boden. 251
 — in Natur und Technik. 65
 — des gekochten Reises. 294
 Milch, Einfluß der Dauer des Aufenthaltes in den Milchgängen auf den Bakteriengehalt. 275
 —, — der Fütterungsarten auf den Bakteriengehalt. 268
 —, frisch gemolkene, Bakteriengehalt. 195. 267
 —, — —, bakteriologische Untersuchungsmethodik. 196
 —, gefrorene, Keimzahl und Genußfähigkeit. 69
 —, Gehalt an Lipase. 231
 —, Kinder-, Entkeimen. 715
 —, Sauerwerden durch Bakterien. 739
 —, Würzburger, Säuregehalt. 612
 —, Wirkung und Vorkommen von Milchsäurebakterien. 154
 Milchbakterien, Biologie. 564
 Milchgerinnung, spontane, Erreger. 600. 733
 —, Natur der gebildeten Milchsäure. 614
 Milchsäurebacillus A, Vorkommen im Mageninhalt. 170
 — B, Vorkommen im Mageninhalt. 170
 — C, Vorkommen im Mageninhalt. 170
 Milchsäurebakterien des Bieres. 157
 — der Brennereimaiche. 154
 — der sauren Gurken, Morphologie und Biologie. 166
 — in der Kartoffelmaische, Ursache der schlechten Gärung. 160
 — des menschlichen Magens, Morphologie und Biologie. 170
 — der Melasse. 165
 — der Milch, Morphologie und Biologie. 154
 — der Preßhefe. 161
 — des Sauerkohles, Morphologie und Biologie. 167
 — des Sauerteiges, Morphologie und Biologie. 168
 Milchzuckerhefe, Untersuchung der Enzyme. 706

- Milzbrandkeime, Vorkommen und Verhalten in Olivenöl. 232
- Molinia caerulea, Träger einer endotrophen Mykorrhiza. 170
- Molkereiabwässer, Reinigung. 28
- Mompha decorella auf Epilobium montanum und E. tetragonum, Gallenbildung. 581
- Monascus purpureus Went, Sporenbildung und systematische Stellung. 68
- Monilia candida, Untersuchung der Enzyme. 706
- fructigena, Gewicht einer Spore. 586
- —, Lebensfähigkeit der Sporen. 584
- —, Wirkung von Bordeauxbrühe. 172
- —, — — Calciumbisulfit auf die Sporen. 585
- platensis auf Lycopersicum esculentum. 71
- Monobutyrase, Vorkommen in der Milch. 231
- Monorhammus sierricola, Pflanzenschädling in Kamerun. 574
- Mosaikkrankheit des Tabaks, Verbreitung. 405
- Moschuspilz siehe Nectria moschata.
- Most aus indischen Feigen, alkoholische Gärung. 343
- Mucor heterogamus, Vorkommen in der Mykorrhiza der Kiefer. 349
- racemosus, Vorkommen in der Mykorrhiza der Kiefer. 349
- Ramannianus n. sp. Möller, Vorkommen in der Mykorrhiza der Kiefer. 349
- spinosus, Vorkommen in der Mykorrhiza der Kiefer. 349
- stolonifer, Rolle bei der Zersetzung der Cellulose. 697
- Mucorineen, Wirte von Piptocephalis. 65
- Mycelophagus Castaneae n. sp. Mangin, Erreger der Maladie de l'encre. 73
- Mycogone puccinioides (Preuss) Sacc., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 696
- Mycosphaerella Puttemansii n. sp. Hennings auf Blättern von Plantago. 359
- Mykorrhiza der Kiefer, Stickstoffaufnahme aus der Luft. 350
- bei Molinia caerulea. 170
- Mykorrhizabildung bei Kiefern. 348
- Mykorrhizafrage, Einfluß der Bodenpilze auf das Gedeihen der Pflanzen. 350
- Myxobacteriaceen, Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien. 22
- Myxococcus incrustans n. sp. Zederbauer, Entwicklung und Bau. 22
- Nanophyes telephii auf Sedum Telephium, Gallenbildung. 579. 581
- Narzissenblätter, Ursache des Brandes. 578
- Nectria (Eunectria) camerunensis n. sp. Appel und Strunk, Vorkommen auf Theobroma cacao. 634
- Nectria cinnabarina, Biologie. 566
- moschata, Vorkommen in verschmutzten Flußläufen und Abwässern. 353
- —, — — Kühlröhren einer Spritfabrik. 352
- Neocosmospora vasinfecta E. Smith auf Sesamum orientale (Turkestan). 23
- Neoravenelia Holwayi (Diet.) Song auf Prosopis juliflora. 573
- Nicotiana, vorzeitige Bestäubung. 300
- Oedogonium, Wirt von Rhabdium acutum. 23
- Oidien, Kultur und Ueberführung in die höhere Fruchtförm. 354
- Oidiopsis Scalia n. g. auf Asclepias curassavica. 72
- Oidium hormini n. sp. Farneti, Vorkommen auf Salvia horminum. 567
- lactis, Ueberführung in eine höhere Fruchtförm. 354
- —, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 210
- Tuckeri, Ueberwinterung. 143
- Olivenöl, Bakteriengehalt. 232
- Oncidium Cavendishianum Batem., Wirt von Uredo aurantiaca. 171
- Orthonitrobenzaldehyd, Verhalten der Hefe. 344
- Ostsee, Vorkommen von stickstoffbindenden Bakterien. 347
- Ovularia Cercidis auf Cercis Siliquastrum. 71
- Gei Eliass. siehe Ramularia Gei (Eliass.) Lindr.
- Oxydationsverfahren zur Reinigung von Molkereiabwässern. 28
- Papilionaceen, Träger von Uromyces-Arten. 763
- Para-Oxybenzaldehyd, Verhalten der Hefe. 344
- Parasitismus, Biologische Studien. 233
- Peckia mate auf Ilex paraguayensis. 71
- Pediococcus acidi lactici, Vorkommen in Getreidemaische. 165
- — —, Vorkommen im Mageninhalt. 170
- — —, Vorkommen in Preßhefe. 161
- Hennebergi n. sp. Sollied, Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol. 711
- Penicillium aeruginosum Dierckx s. Penicillium olivaceum Wehm.
- atro-viride, Morphologie. 296

- Penicillium aurantio-brunneum*, Morphologie. 296
 — — *candidum*, Morphologie. 296
 — — *griseum*, Morphologie. 296
 — Biourgei, Morphologie. 296
 — brevicaula, Verwendung zum Nachweis von Arsen. 237
 — brevicompactum, Morphologie. 296
 — brunneo-rubrum, Morphologie. 296
 — candido-fulvum, Morphologie. 296
 — carmino-violaceum, Morphologie. 296
 — citreo-nigrum, Morphologie. 296
 — — *roseum*, Morphologie. 296
 — congolense, Morphologie. 296
 — corylophilum, Morphologie. 296
 — Duclauxi Delacr., Morphologie. 296
 — elongatum, Morphologie. 296
 — glaucum Link?, Morphologie. 296
 — —, Ursache von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
 — griseo-brunneum, Morphologie. 296
 — — *fulvum*, Morphologie. 296
 — — *roseum*, Morphologie. 296
 — hirsutum, Morphologie. 296
 — Link, Morphologie und Systematik. 295
 — — *minio-luteum*, Morphologie. 296
 — — *olivaceum* Wehm., Morphologie. 296
 — — *roseo-purpureum*, Morphologie. 296
 — — *rubro-punctatum*, Morphologie. 296
 — — *verrucosum*, Morphologie. 296
Peptase, proteolytisches Enzym in keimender Gerste. 341
Periplaneta orientalis (L.), Infektion mit einigen Bakterienarten. 658, 748
 — —, Wirt des *Bacillus Bütschlii*. 337
 Perithezienbildung von *Ascobolus*, Rolle der Bakterien. 153
Perrisia fraxini auf *Fraxinus excelsior*, Gallenbildung. 580
Pestalozzia ramosa n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Vitis vinifera*. 71
Petrognatha gigas, Schädling der Kautschukpflanzen in Kamerun. 575
 Pfeifengras siehe *Molinia caerulea*.
 Pferdebohnen, Tötung der Befallpilze durch Bespritzung mit Kupfervitriollösung. 587
 Pfirsich, Gummifluß. 700
 Pflanzen, Einwirkung der Bodensterilisation auf deren Entwicklung. 716
 — — -krankheiten in Argentinien. 71
 — — in Dalmatien. 25
 — — in Iowa. 72
 — — in Portugal. 70
 — —, Wirkung der Bodendurchlüftung. 717
 — — -schädlinge in Kamerun. 573
 — —, Wirkung der Bodendurchlüftung. 717
 Pflanzenschutzmittel, Wirkung und Verwertung der Bordeauxbrühe. 717
 Pflaumenbaum, Gummifluß. 699
 Pfropfen der Pflanzen, Verwachsungsstellen. 74
 Pfropfversuche an perennierenden und einjährigen Pflanzen. 300
Phaeosolenia platensis n. g. et sp. Spezzazini auf *Manihot carthagenensis*. 71
Phlebia merismoides Fr., Ueberführung der Oidienform in die höhere Fruchtform. 354
Pholiota mutabilis, Kultur der Oidien und Ueberführung in die höhere Fruchtform. 354
Phoma Hennebergii Kühn, Vorkommen in Iowa. 72
Photobacterium italicum n. sp. Foà e Chiappella, Morphologie. 706
Phragmidium subcorticium (Schrank) Winter, Biologie. 568
 Phrystola-Art, Schädling der Kautschukpflanzen in Kamerun. 575
Phyllachora eleusines auf *Eleusine tristachya*. 71
 — *gaylussaciae* n. sp. Hennings, auf Blättern von *Gaylussacia*. 359
 — *graminis* (Pers.) Fuckel, Vorkommen in Iowa. 72
 — ? *mutisiae* auf *Mutisia*-Arten. 71
Phyllosticta amphigena n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Camellia japonica*. 71
 — *bauhinicola* n. sp. Hennings auf Blättern von *Bauhinia*. 359
 — *coffeicola* Speg., Beziehung zu *Stilbella flavida*. 356
 — *concentrica* n. var. *Lusitanica* auf *Hedera helix*. 70
 — *dioscoreae daemonae* n. sp. Hennings auf Blättern von *Dioscorea daemonae*. 359
 — *laurina* n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Laurus nobilis*. 70
 — *oroxytonis* n. sp. Hennings auf Blättern von *Oroxylon indicum*. 359
 — *rubi* n. sp. Hennings auf *Rubus*. 359
 — *sapindi* n. sp. Hennings auf Blättern von *Sapindus Saponaria*. 359
 — *Saponariae* Sacc. auf *Saponaria officinalis*. 299
 — *Theobromae* n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Theobroma Cacao*. 71
 — *Tiliae* Sacc. auf *Tilia platyphylla*. 299
 Phylloxera, durch *Mycelophagus verus* verursachte Krankheit der Kastanien. 73
Physalospora escalloniae n. sp. Hennings

- auf Blättern von *Escallonia chlorophylla*. 359
Physoderma Debeauxii n. sp. Bubak auf den Blättern von *Scilla maritima*. 355
 Pied noir, durch *Mycelophagus* verursachte Krankheit der Kastanien. 73
 Pigment, Auftreten bei *Bacillus prodigiosus*. Zusammensetzung. 308
 — des *Bacillus polychromogenes*, Verhalten. 296
 —, Produktion durch Bakterien. 311, 397, 456, 520
 Pilze s. Fungi.
 —, auf *Theobroma cacao* beobachtet. 551, 632
 —. Vorkommen in Proskau. 571
 — -kunde von Vorarlberg. 236
Pinus ponderosa, Wirt von *Ceratostomella* u. *Polyporus*. 171
Piptcephalis auf Mucorineen. 65
Piricularia caudata n. sp. Appel und Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 556
 — *grisea* (Cooke) Sacc., Vorkommen in Iowa. 72
Pissodes notatus, Vorkommen in Dalmatien. 25
Plagiotrochus fusifex auf *Rubus fruticosus*, Gallenbildung. 580
 Plasmolyse, Veränderung in Pflanzenzellen. 27
 Plasmozym des *Saccharomyces cerevisiae*, glykolytischer Körper. 412
 Platane, Krankheit durch *Gloeosporium nervisequum* verursacht. 299
Plectridium pectinovorum n. sp. Störmer, Erreger der Flachs- und Hanfröste. 66
Pleoravenelia Brongniartiae (Diet. et Holw.) Long auf *Brongniartia sericea*, intermedia. 573
 — *epiphylla* (Schw.) Long auf *Tephrosia virginiana*, *hispidula*, *spicata*. 573
 — *Indigoferae* (Tranzsch.) Long auf *Indigofera cuernavacana* und *Palmeri*. 573
 — *laevis* (Diet. et Holw.) Long auf *Indigofera densifolia*. 573
 — *similis* n. sp. Long auf *Brongniartia*. 573
 — *talpa* n. sp. Long auf *Tephrosia talpa*. 573
 Pleospora, Formenkreis. 52
 — -Arten, Zusammenhang mit Helminthosporiumarten. 52
 Pleurocecidien, Morphologie. 579
Polydrosus cervinus, Vorkommen in Dalmatien. 25
Polyporus Penningtonii auf *Erythrina Crista-galli*. 71
Polyporus ponderosus n. sp. Schrenk, Ursache der Rotfäule des Kiefernholzes. 171
 Preßhefe, Gehalt an Milchsäurebacillen. 161
Protascus tubuliformis n. sp. Dangeard, Vorkommen auf Aelchen. 108
Proteus vulgaris, Vorkommen im Käse. 642
Psalliota campestris, Gehalt an Erepisin. 231
Pseudobeltramia cedrelae Hennings (n. gen. *Dematiacearum*), Vorkommen in St. Paulo. 359
Pseudomonas cerinum Ellis s. *Bacterium cerinum* Henrici.
 — *filamentosum* Ellis s. *Bacterium filamentosum* Burchard.
 — *hirtum* Ellis s. *Bacterium hirtum* Henrici.
 — *italicum* n. sp. s. *Photobacterium italicum* n. sp. Foà e Chiapella.
 — *Stewartii*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *tomentosum* Ellis s. *Bacterium tomentosum* Henrici.
Pseudopeziza cantareirensis auf Blättern einer *Melastomataceae*. 359
Psilocybe coprophila, Ueberführung der Oidienform in die höhere Fruchtförm. 354
 — *spadicea*, Ueberführung der Oidienform in die höhere Fruchtförm. 354
Puccinia auf *Sorghum halepense*. 70
 — *acanthospermi* n. sp. P. Hennings auf Blättern von *Acanthospermum*. 358
 — *Anthoxanthi*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *arundinacea*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *brachypus* auf *Bromus auleticus* u. *Triticum sativum*. 71
 — *caricis montana* E. Fischer, Biologie. 569
 — *cestri* Diet. u. P. Henn. auf *Cestrum* blättern. 358
 — *coronata*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *coronifera* Kleb., Vorkommen in Iowa. 73
 — *dispersa* (Erikss.), Parasitismus. 570
 — *Dubyi* Müll.-Arg. auf *Androsace lactea*. 571
 — *glumarum* (Schmidt) Eriks. et Herm. f. *Tritici*, Vorkommen in Iowa. 73
 — — f. *Hordei*, Vorkommen in Iowa. 73
 — — f. *Secalis*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *graminis*, Vorkommen in Iowa. 73
 — — f. *Arenae*, Vorkommen in Iowa. 73
 — — f. *Secalis*, Vorkommen in Iowa. 73
 — — *Pers. f. Tritici*, Vorkommen in Iowa. 73

- Puccinia heliotropicola* auf *Heliotropium campestre*. 71
 — *Magnusiana* Koern., Vorkommen in Iowa. 73
 — *Malvacearum* Mont., Ursache der Blätterdurchbohrungen. 299
 — *Phragmitis*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *pileata* n. sp. Mayor auf *Epilobium spicatum*. 571
 — *Poa* Niels., Vorkommen in Iowa. 73
 — *ramulata* Schweinitz, Vorkommen in Iowa. 73
 — *rubigovera* (DE.) Wint., Vorkommen in Iowa. 73
 — *rubigo-vera* f. *Secalis*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *Scillae* Linh. auf *Scilla bifolia*. 571
 — *simplex* Koern., Vorkommen in Iowa. 73
 — *Sorghi* Schw., Vorkommen in Iowa. 73
 — *tornipara*, Vorkommen in Iowa. 73
 — *tritricum* auf *Triticum*-Arten. 71
 — *vexans* Farlow., Vorkommen in Iowa. 73
Pyrenochaeta humicola Oud., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
Pyronema confluens Tul., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
 Quotient, respiratorischer bei Hefe. 95
Ramularia acris n. sp. Lindroth auf *Ranunculus acris*. 235
 — *Adoxae* (Rabh.) Karst. auf *Adoxa Moschatellina*. 236
 — *agrestis* Sacc. auf *Viola tricolor* und var. *arvensis*. 235
 — *Ajugae* (Niessl.) Sacc. auf *Ajuga reptans*. 236
 — *alnica* Cke. auf *Alnus incana*. 235
 — *Anagallidis* n. sp. Lindroth auf *Veronica Anagallis*. 236
 — *Anchusae-officinalis* Eliass. auf *Anchusa officinalis*. 235
 — *anserina* Allesch. auf *Potentilla anserina*. 235
 — *Archangelicae* n. sp. Lindroth auf *Archangelica officinalis*. 235
 — *Armoraciae* Fuck. auf *Nasturtium Armoracia*. 235
 — -Arten, Vorkommen in Finnland. 235
 — *arvensis* Sacc. auf *Potentilla*-Arten. 235
 — *Barbareae* Peck auf *Barbarea stricta*. 235
 — *Botrychii* n. sp. Lindroth auf *Botrychium Lunaria*. 235
 — *Buniadis* Vestergr. auf *Bunias orientalis*. 235
Ramularia calcea (Desm.) Ces. auf *Glechoma hederacea*. 236
 — *Calthae* n. sp. Lindroth auf *Caltha palustris*. 235
 — *Campanulae-latifoliae* Allesch. auf *Campanula latifolia*. 236
 — *Cardui* Karst. auf *Carduus crispus*. 236
 — *Cicutae* Karst. auf *Cicuta virosa*. 235
 — *coccinea* (Fuck.) Vestergr. auf *Veronica officinalis*. 236
 — *cylindroides* Sacc. auf *Pulmonaria officinalis*. 235
 — *Cynoglossi* n. sp. Lindroth auf *Cynoglossum officinale*. 235
 — *decipiens* Ell. et Ev. auf *Rumex hippolapathum*. 235
 — *Epilobii-parviflori* n. sp. Lindroth auf *Epilobium parviflorum*. 235
 — *filaris* Freg. var. *Lappae* Bres. auf *Lappa minor, tomentosa*. 236
 — *filiformis* n. sp. Lindroth auf *Pedicularis silvatica*. 236
 — *Fragariae* Sacc. auf *Fragaria virginiana*. 299
 — *Gei* (Eliass.) Lindr. (syn. *Ovularia Gei* Eliass.) auf *Geum rivale, strictum, urbanum*. 235
 — *Geranii* (West.) Fuck. auf *Geranium pusillum*. 235
 — *Geranii-silvatici* Vestergr. auf *Geranium silvaticum*. 235
 — *gibba* Fuck. auf *Ranunculus repens*. 235
 — *Heraclei* (Oud.) Sacc. auf *Heracleum sibiricum*. 235
 — *Hornemanni* n. sp. auf *Epilobium Hornemanni*. 235
 — *lactea* (Desm.) Sacc. auf mehreren *Viola*-Arten. 235
 — *lamiicola* C. Mass. auf *Lamium album*. 236
 — *Lampsanae* (Desm.) Sacc. auf *Lampsana communis*. 236
 — *lapponica* n. sp. Lindroth auf *Ranunculus lapponicus*. 235
 — *Lysimachiae* Thuem. auf *Lysimachia vulgaris*. 235
 — *Lysimachiarum* n. sp. Lindroth auf *Lysimachia Nummularia*. 235
 — *macrospora* Fres. auf *Campanula glomerata*. 236
 — — var. nov. major auf *Campanula rapunculoides*. 236
 — *Malvae* Fuck. auf *Malva Alcea*. 235
 — *Moehringiae* n. sp. Lindroth auf *Moehringia trinervia*. 235
 — *montana* Speg. auf *Epilobium angustifolium*. 235
 — *obducens* Thuem. auf *Pedicularis palustris*. 236

- Ramularia patens* Sacc. auf *Rumex obtusifolius*. 299
 — *picridicola* n. sp. Lindroth auf *Picris hieracioides*. 236
 — *Polygalae* (Schroet.) Sacc. et Syd. auf *Polygala amara*. 235
 — *pratensis* Sacc. auf *Rumex thyrsoideus*. 235
 — *Primulae* Thüm. auf *Primula auricula*. 572
 — — Thuem. auf *Primula officinalis*. 235
 — *pseudococcinea* n. sp. Lindroth auf *Veronica chamaedrys*. 236
 — *pygmaea* n. sp. Lindroth auf *Veronica serpyllifolia*. 236
 — *Rhei* Allesch. auf *Rheum*. 236
 — — Allesch auf *Rheum undulatum*. 572
 — *Saxifragae* Syd. auf *Saxifraga granulata*. 235
 — Schulzeri Bäuml. auf *Lotus corniculatus*. 235
 — *Silenes* Karst. auf *Silene inflata*. 235
 — *Sparganii* n. sp. Lindroth auf *Sparganium glomeratum*. 235
 — *Succisae* Sacc. auf *Succisa pratensis*. 236
 — *Taraxaci* Karst. auf *Taraxacum officinale*. 236
 — *Tricherae* n. sp. Lindroth auf *Trichera arvensis*. 236
 — *Trollii* (Jacz.) Lindr. (syn. *Didymaria Trollii* Jacz.) auf *Trollius europaeus*. 235
 — *Tulasnei* Sacc. auf *Fragaria elatior*. 235
 — *Urticae* les. auf *Urtica dioica*. 235
 — *Valerianae* (Speg.) Sacc. auf *Valeriana officinalis*. 236
 — *variabilis* Fuck. auf *Verbascumarten*. 235
 — *Vestergreniana* Allesch. auf *Levisticum officinale*. 235
 Rauch, Beschädigung d. Vegetation. 27
Ravenelia appendiculata Lagh. et Diet. auf *Phyllanthus galeottinus*. 572
 — *arizonica* Ell. et Ev. auf *Prosopis juliflora* und *velutina*. 572
 — *cassiaeicola* Atk. auf *Cassia nyctitans*. 572
 — *expansa* Diet. et Holw. auf *Acacia tequilina*. 572
 — *Farlowiana* Diet. auf *Acacia anisophylla* und *crassifolia*. 572
 — *fragrans* n. sp. auf *Mimosa fragrans*. 572
 — *indica* Berk. auf *Cassia Abrus* in Mexiko. 572
 — *Leucaenae* n. sp. Long auf *Leucaena diversifolia*. 572
Ravenelia Longiana Syd. auf *Cassia Roemeriana* in Texas. 572
 — *mesillana* Ell. et Barth. auf *Cassia bauhinioides*. 572
 — *mexicana* Tranzsch. auf *Calliandra grandiflora*. 572
 — *Mimosae-sensitivae* Herm. auf *Mimosa albida*. 572
 — *opaca* (Seym. et Earle) Diet. auf *Gleditschia triacanthos*. 572
 — *siliquae* n. sp. Long auf *Acacia Farnesiana* in Mexiko. 572
 — *spinulosa* Diet. et Holw. auf *Cassia Lindheimeriana* und *multiflora*. 572
 — *texana* Ell. et Gall. auf *Desmanthus* oder *Cassia* in Texas. 572
 — *verrucosa* Cke. et Ell. auf *Leucaena lanceolata*. 572
 — *versatilis* (Peck) Diet. auf *Acacia Greggii*. 572
 —, Vorkommen in Nordamerika. 572
 Rebenfloh s. *Altica ampelophaga*.
 Reinigung, biologische der Abwässer, Bedeutung der Sulfatreduktion. 119
 —, biologische von Molkereiabwässern. 28
 Reis, gekochter, Gehalt an Mikroorganismen. 294
 Retinia, Vorkommen in Dalmatien. 25
Rhabdium acutum n. sp. Dangeard auf *Spirogyra* u. *Oedogonium*. 22
Rhabdophaga salicis auf *Salix caprea*, Gallenbildung. 580
Rhabdospora theobromae n. sp. Appel u. Strunk, Vorkommen auf *Theobroma cacao*. 552
Rhizoctonia violacea, Ursache der Zuckerrübenkrankheit. 584
Rhizophagus grandis, Feind des *Dendroctonus micans*. 360
Rhizopus nigricans, Ursache von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
 Ribesarten, Wirte von *Cronartium ribicolum*. 571
Riccoa aetnensis n. sp. Cavara, Vorkommen auf dem Aetna. 569
Rickia Wasmanni Cav., Vorkommen auf *Myrmica laevinodis* Nyl. 236
 Roggenschrot, Einfluß von Alkohol auf die daran befindlichen Organismen. 709
 Rosenschädlinge aus dem Tierreiche, Bekämpfung. 361
 Rostpilze, Formenkreis. 106
 Rotfäule des Kiefernholzes, verursacht durch *Polyporus ponderosus*. 171
 Rußtau s. *Capnodium salicinum* Mont.
Saccharobacillus pastorianus var. *berolinensis*, Vorkommen im Weißbiere. 158

- Saccharomyces apiculatus*, Sporenbildung. 336
 — —, Vorkommen auf Blüten von *Robinia pseudacacia*. 336
 — *cerevisiae*, Isolierung eines glykolytischen Körpers. 412
 — —, respiratorischer Quotient. 95
 — *Opuntiae*, Vorkommen in Feigenmost. 343
 — *Pastorianus* II, Ursache der alkoholischen Gärung des Feigenmostes. 343
 —, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 209
Safranin, Wirkung auf Invertin. 41
Salvia horminum, Wirt von *Oidium* und *Botrytis hormini*. 567
 Salzsäure, vegetationsschädlich. 28
 Samen, keimende, Gehalt an Enzymen. 67
Sarcina flava, Pathogenität für *Periplaneta orientalis*. 680
 — *lutea*, Vorkommen im Käse. 642
 Sauerkohl, Vorkommen und Wirkung von Milchsäurebakterien. 167
 Sauerkrautgärung, Erreger. 540
 Sauerteig, Vorkommen und Wirkung von Milchsäurebakterien. 168
 Schädlinge in Dalmatien. 25
 — der Rosen, Bekämpfung. 361
 — der Weinrebe. 74
 — der Weinreben in Ungarn. 575
 Schimmelpilze, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 210
Schizoneura lanigera, Vorkommen in Dalmatien. 25
Schizonycha-Art, Pflanzenschädling in Kamerun. 574
Schizosaccharomyces mellacei, Kopulation. 21
 — *Pombe*, respiratorischer Quotient. 104
 Schüttelapparat für gärungsphysiologische Arbeiten. 107
 Schwarzfäule des (Blumen-)Kohles, Bekämpfung. 587
 Schwarzwurzelkrankheit, verursacht durch *Sporidesmium Scorconerae* n. sp. Aderhold. 576
 Schwefelbakterium siehe *Tiophysa volutans* n. sp. Hinze.
 Schwefelbakterien, Stoffwechsel einer neuen Gruppe. 109
 Schwefeldioxyd, vegetationsschädlich. 28
 Schwefelwasser, Bakteriengehalt. 562
 Schwefelwasserstoffbildung durch Bakterien. 81. 113
 Schwerkraft, Einfluß auf Bact. Zopfii. 60
Scilla maritima, Wirt von *Physoderma Debeauxii* n. sp. Bubák. 355
Sclerospora graminicola Schröt., Vorkommen in Iowa. 72
Scolecotrichum Fehl., Vorkommen in Iowa. 72
 Septoria-Arten, Ursache einer Getreidekrankheit. 362
 — *graminum*, Vorkommen in Iowa. 72
 — *ribis* Desm. auf *Ribes grossularia*. 572
 — *scabiosicola* Desm. auf *Knautia arvensis*. 299
 Serodiagnostik der Hülsenfruchtmehle. 8. 45
 — der Schwämme. 51
Sesamum orientale, bakterielle Erkrankung. 333
 — —, Wirt von *Neocosmospora vasinfecta*. 24
Seynesia Hammariana n. sp. Hennings auf Blättern von *Coccoloba*. 359
 — *melastomataceae* n. sp. Hennings auf Blättern einer *Melastoma*. 359
 Shoyu, Gehalt an Bakterien. 564
 Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. 75
Smicronyx coecus auf *Cuscuta epithymum*, Gallenbildung. 582
Smicronyx Jungermanniae auf *Cuscuta europaea*, Gallenbildung. 582
Sorbus Aucuparia, Wirt von *Leptosphaeria Sorbi* n. sp. 24
Sordaria humicola Oud., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
Spartium scoparium L., günstiger Einfluß auf die Fichtenentwicklung durch Anreicherung des Bodens mit Stickstoff. 351
Sphaerella coffeicola Cooke, Beziehung zu *Stilbella flavida*. 356
Sphaeronema Lycopersici Plowr. siehe *Gloeosporium phomoides* Sacc.
Sphaerotheca mors uvae, Stachelbeermelan, Uebertragbarkeit. 578
Sphaerulina maydis n. sp. Hennings auf Blättern von Mais. 359
Spirillum desulfuricans siehe *Microspira*.
 — *ferrugineum* Hansg. s. *Gallionella ferruginea* Ehrenberg.
Spirochaete ferruginea nob. olim s. *Gallionella ferruginea* Ehrenberg. 277
Spirogyra, Wirt von *Rhabdium acutum*. 23
Spirulina ferruginea Kirchner siehe *Gallionella ferruginea* Ehrenberg.
 Sporenbildung bei *Saccharomyces apiculatus*. 336
 — bei *Taphrina*-arten. 343
Sporoctomorpha Magnoliae n. g. et sp. d'Almeida u. Souza da Camara, Bau und Vorkommen auf *Magnolia*. 71
Sporodesmium Scorzonerae Aderh. auf *Scorzonera hispanica*. 571
 — — n. sp. Aderh., Ursache der Schwarzwurzelkrankheit. 576

- Sporotrichum bombycinum* (Corda) Rabh., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
- *globuliferum* zur Bekämpfung des Rebenflohs. 237
- *griseolum* Oud., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 696
- *roseolum* Oud. et Beijer., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
- Stachelbeermeltau siehe *Sphaerotheca mors uvae*.
- Stachybotrys alternans* Oud., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
- Städtenebel, vegetationsschädlich. 28
- Stagonospora borbonicae* n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Lantania borbonica*. 71
- Stalldünger, Konservierung. 715
- Stallmist, Rolle des Gipses bei der Verrottung. 389. 442
- Staphylococcus albus*, Vorkommen und Verhalten in Olivenöl. 232
- *aureus*, Vorkommen und Verhalten in Olivenöl. 232
- *mastitis albus* (Guillebeau), Vorkommen in Milch. 199
- Staphylokokken*, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 207
- Stefaniella Trinacriae* auf *Atriplex halimus*, Gallenbildung. 581
- Stemphylium macrosporoideum* (B. en Br.) Sacc., Ursache der Zersetzung der Cellulose. 696
- Sterculia diversifolia*, Gummifluß. 700
- Sterigmatocystis nigra*, Ernährung. 22
- , Ursache von Keimlingskrankheiten in Iowa. 72
- Sternotomis imperialis*, Larve, Schädling des Liberiakaffees. 574
- Stickstoffassimilation durch *Bacillus ellenbachensis* a Caron. 712
- Stictis maydis* n. sp. Hennings auf Blättern von Mais. 359
- Stilbella flavida*, Bekämpfung. 358
- —, Infektion. 357
- —, Kultur. 356
- —, Ursache der Kaffeekrankheit. 355
- Stilbum flavidum* siehe *Stilbella flavida*.
- Stockälchen, Beziehung zur Fritfliege. 583
- Stoffwechsel einer neuen Gruppe von Schwefelbakterien. 109
- Stoffwechselprodukte von *Bac. lactis aërogenes*. 732
- Streptokokken*, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 142
- Streptothrixart*, aus Erdbeerwurzeln isoliert, Biologie und Morphologie. 705
- Strukturveränderungen in Pflanzenzellen durch Frost etc. 27
- Sulfatreduktion durch Bakterien. 81. 113
- — —, Bedeutung für die Reinigung der Wässer. 119
- — —, Notwendigkeit organischer Stoffe. 117
- in Seewasser. 92. 113
- in Süßwasser. 83
- Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien, Myxobakterien. 22
- von *Volvox* und *Azotobacter*. 712
- Tabak, Mosaikkrankheit, Verbreitung. 405
- Taphrina cerasi*, Sporenbildung. 343
- *deformans*, Sporenbildung. 343
- *Johansonii*, Sporenbildung. 343
- *Kusanoi* n. sp. Ikeno, Sporenbildung. 343
- *pruni*, Sporenbildung. 343
- Teer, vegetationsschädlich. 28
- Temperatur, Einfluß auf *Bact. Zopfii*. 60
- , auf die Entwicklungsgeschwindigkeit der Hefe. 228
- , auf die Keimung von *Monilia*, *Botrytis*- und *Coniothyrium*sporen. 584
- Theobroma cacao*, Pilzfunde. 551. 632
- Thiobacillus denitrificans* n. sp. Beijerinck, Ernährung im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle. 597
- — n. sp. Beijerinck, Morphologie u. Kultur. 599
- *thioparus* n. sp. Beijerinck, Ernährung im Dunkeln mit Kohlensäure als Kohlenstoffquelle. 594
- — n. sp. Beijerinck, Morphologie u. Kultur. 599
- Thiophysa volutans* n. sp. Hinze, Schwefelbakterium aus dem Golf von Neapel, Morphologie. 563
- Tilletia foetens* (B. et C.) Schröt., Vorkommen in Iowa. 73
- *hordei* (Koern.), Vorkommen in Iowa. 73
- *hypsochila* auf *Stipa caespitosa* u. *tenuissima*. 71
- *lolii* Auerw., Vorkommen in Iowa. 73
- *molinae* (Thüm.) Wint., Vorkommen in Iowa. 73
- *rotundata* Arth. Ell. et Ev., Vorkommen in Iowa. 73
- *secalis* (Corda) Kühn, Vorkommen in Iowa. 73
- *striaeformis* (Westd.) Magnus, Vorkommen in Iowa. 73
- *Tritici* (Bjerk.) Wint., Vorkommen in Iowa. 73
- Tomate, Wirt von *Gloeosporium phomoides* Sacc. 232

- Tortrix turoniana*, Vorkommen in Dalmatien. 25
- Torula*, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 209
- *alba*, Vorkommen im Käse. 652
- *rosea*, Vorkommen im Käse. 650
- Tricalciumphosphat, Einwirkung von Bakterien auf die Löslichkeit. 724
- Trichocladium asperum* Harz, Ursache der Zersetzung der Cellulose. 695
- Trifolium pratense*, Wirt von *Bacillus capsulatus* Trifolii n. sp. Petri. 347
- Tryptase, proteolytisches Enzym in keimender Gerste. 341
- Tubercularia vulgaris* siehe *Nectria cinnabarina*.
- Tylenchus* auf *Carlyna corymbosa*, Gallenbildung. 583
- Tyrophthrix* bacillen, Vorkommen in schwedischem Güterkäse. 213
- Tyrophthrix* bacillen, Vorkommen in Hartkäsen. 329
- Uncinulites* Baccarini, Beziehung zu *Cercospora*. 170
- Uredineen, Biologie. 567
- , Vorkommen in der Schweiz. 571
- Uredo aurantiaca* n. sp. Montemartini, Vorkommen auf *Oncidium Cavendishianum* Batem. 171
- Uredo medicaginis* auf *Medicago denticulata*. 71
- *paulensis* n. sp. Hennings auf Blättern von *Calamagrostis*. 358
- Urocystis Agropyri* (Preuss.) Schr., Vorkommen in Iowa. 73
- *occulta* Wallr., Vorkommen in Iowa. 73
- *Violae* Rab. auf *Viola odorata*. 299
- Uromycesarten, Vorkommen auf Papiionaceen. 763
- Uromyces acuminatus*, Vorkommen in Iowa. 73
- *Anthyllidis* (Grev.), Morphologie und Biologie. 793
- *Astragali* (Opiz), Morphologie und Biologie. 781. 792
- *Dactylidis*, Vorkommen in Iowa. 73
- *Ervi* (Wallr.) Plowr., Biologie. 776
- *Euphorbiae* *Astragali* (Opiz), Morphologie und Biologie. 790
- — *Corniculati* (Opiz), Morphologie und Biologie. 791
- *Fabae* (Pers.) auf *Lathyrus montanus*, Biologie. 771
- — — auf *Lathyrus vernus*, Biologie. 774
- — — auf *Vicia Faba*, Biologie. 764
- — — auf *Vicia Cracca*, Biologie. 767
- *graminicola*, Vorkommen in Iowa. 73
- *Hedysari obscuri* (DC.), Biologie. 777
- Uromyces hypsophilus* auf *Euphorbia*. 71
- *Pisi* (Pers.), Biologie. 780
- Urophlyctites Oliverianus* auf *Alethopteris aquilina*. 23
- Ustilago Andropogonis* Kellerm. et Swingle, Vorkommen in Iowa. 72
- *Aristidae* Pk., Vorkommen in Iowa. 72
- *avenae* (Pers.) Jensen, Vorkommen in Iowa. 72
- — n. form. *foliicola* d'Almeida und Souza da Camara auf *Avena sativa*. 70
- *bromivora* var. *macrospora*, Vorkommen in Iowa. 72
- *Buchloës* Ell. et Tracy, Vorkommen in Iowa. 72
- *bullata*, Vorkommen in Iowa. 72
- *cruenta* Kühn, Vorkommen in Iowa. 72
- *digitariicola* auf *Digitaria sanguinalis*. 71
- *Dracaenae* n. sp. d'Almeida u. Souza da Camara auf *Dracaena draco*. 70
- *Fischeri* Pass., Vorkommen in Iowa. 72
- *hordei* (Pers.) Kellerm., Vorkommen in Iowa. 72
- *hypodytes* Schlecht., Vorkommen in Iowa. 72
- *longissima* Sow., Vorkommen in Iowa. 72
- *Lorentziana*, Vorkommen in Iowa. 72
- *maydis*, Biologie. 233
- — DC, Vorkommen in Iowa. 72
- *montanensis* Ell. et Holw., Vorkommen in Iowa. 72
- *neglecta* Niessl, Vorkommen in Iowa. 72
- *nuda*, Vorkommen in Iowa. 72
- *Panici-miliacei*, Vorkommen in Iowa. 72
- *perennans*, Vorkommen in Iowa. 72
- *pustulata* Tracy et Early, Vorkommen in Iowa. 72
- *Reiliana* Kühn, Vorkommen in Iowa. 72
- *Sacchari* Rbh., Vorkommen in Iowa. 72
- *segetum* (Butt.) Ditt., Vorkommen in Iowa. 72
- *Sorghi* (Lk.) Wint., Vorkommen in Iowa. 72
- *sorghicola* auf *Sorghum vulgare*. 71
- *spermophora* Bertz. et Curt., Vorkommen in Iowa. 72
- *stipicola* auf *Stipa setigera* und *filiculmis*. 71
- *Syntherismae* (Schw.) Ell. et Ev., Vorkommen in Iowa. 72
- *Vilfae*, Vorkommen in Iowa. 72

- Valsa cincta* Fries in f. conidiophora
Cytospora rubescens Fries auf Aepfel-
wildlingen. 571
- Verflüssigung von Mannan durch Mi-
kroben. 21
- Vergärung von Zitronensäure als Ur-
sache einer Johannisbeerweinerkrank-
ung. 346
- Verrottung des Stallmistes, Gips als
ammoniakbindende Substanz. 389, 442
- Verwachsungsstellen an gepropften
Pflanzen. 74
- Verwundungen, Einfluß auf den Eiweiß-
gehalt der Zellen. 172
- Vibrio devorans* n. sp. Beijerinck, Vor-
kommen im Grabenwasser. 598
- Vitis vinifera*, Krankheiten. 74
- Volvox globator*, Symbiose mit Azoto-
bacter. 712
- minor, Wirt von Amöben. 24
- Vorticella microstoma* (?), Vorkommen
in Brunnenröhren. 353
- Wasser, bakteriologische Untersuchung.
220, 287
- , Quell-, Vorkommen von farbstoff-
bildenden Bakterien. 721
- Wasser, Vorkommen von violetten
Bakterien. 562
- -kultur der Erbsen. 1
- Weinrebe s. *Vitis vinifera*. 699
- , Gummifluß. 699
- Weinrebenschädlinge in Ungarn. 575
- Weißbier, kochende Gärung. 14
- , Milchsäurebakterien. 158
- Weizenmalz, forciertes, Ursache der
kochenden Gärung des Weißbieres. 14
- Welken, Veränderung in Pflanzenzellen.
27
- Wickenmehl, Auffindung durch Sero-
diagnostik. 9. 48
- Xestophanes potentillae* auf *Potentilla*
reptans, Gallenbildung. 579. 581
- Zersetzung der Ameisensäure durch
Mikroben. 177. 256. 317
- d. Futter- u. Nahrungsmittel. 61
- Zitronensäure, Vergärung, Ursache einer
Erkrankung des Johannisbeerweines.
346
- Zoogloea ramigera*, Vorkommen in
Brunnenröhren. 353
- Zuckerrübe, Krankheiten. 583
- Zymin, Gärungsproben. 708

III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Apparat zum Erhalten von Wasserstoff-
gas auf elektrolytischem Wege. 799
- Aspergillus fumigatus*, Ascusform. 332
- — Konidien. 331
- Atmung, normale und intramolekulare
der einzelligen Algen, Kurven, (2 Taf.)
153
- Bacillus denitrificans fluorescens* a in
Salpeterbouillon (Taf.). 194
- — — a, Teilungsstadium der ovoiden
Formen (Taf. II, Fig. 3). 194
- — — b, in Nitritbouillon (Taf. II,
Fig. 4). 194
- ferruginens. 698
- prodigiosus, Apparat zur anaëroben
Kultur. 309
- Bacterium* 15, Kultur (Taf. I, Fig. 3).
214
- 16, Kultur (Taf. I, Fig. 4). 214
- apiculatum, Kultur (Taf. II, Fig. 7).
214
- cerinum, Geisseln. 249
- curvatum, bei höherer Temperatur
gezüchtet (Taf. I, Fig. 5). 214
- —, bei Zimmertemperatur gezüchtet
(Taf. I, Fig. 6). 214
- dimorphum, ältere Agarkultur
(Taf. I, Fig. 2). 214
- Bacterium dimorphum*, Agarkultur
nach 1 Tage, (Taf. I, Fig. 1). 214
- filamentosum, Geisseln. 247
- formicicum, Agarkultur (Taf., Fig.
1—4, 7.8). 326
- —, Kalksphärolithen aus einer
flüssigen Kultur (Taf., Fig. 5—6). 326
- gammari, Kern (Taf., Fig. 1—12).
496
- hirtum, Geisseln. 244
- rugosum, Geisseln. 248
- tomentosum, Geisseln. 245
- Bakterien, denitrifizierende, auf Filtrier-
papier (Taf., Fig. 1—3). 698
- , Infektion von *Bombyx mori* und
Periplaneta orientalis, Kurven. 762
- Colletotrichum theobromae*. 556
- Corymbomyces albus*. 633
- Diplodina corticola*. 552
- Discella cacaoicola*, Konidien. 555
- — Pykniden. 554
- Erbsen in Wasserkultur, Entwicklung.
4. 5
- — —, Kulturglas. 3
- — —, Petrischale für die Keimung. 2

- | | | | |
|---|-----|--|-----|
| Fadenbacterium, Kern (Taf., Fig. 18—40). | 496 | Rhabdospora theobromae, Sporen. | 553 |
| Fusarium theobromae auf Cacaofrüchten. | 636 | Schüttelapparat für gärungsphysiologische Arbeiten. | 107 |
| Gloeosporiumfäule bei Kirschen (Taf.). | 226 | Sesamum orientale, gesunde und von Bakterien befallene Pflanzen. | 335 |
| Heizung, elektrische, für Brutkasten. | 687 | Uromyces Anthyllidis (Grev.), Uredosporen. | 795 |
| Käse, Bakterienkolonien (Taf. II u. III). | 214 | — Astragali (Opiz), Uredo- und Teleutosporen. | 792 |
| Microspira aestuarii (Taf. I, Fig. 5). | 119 | — Euphorbiae Astragali (Opiz), Uredo- und Teleutosporen. | 791 |
| — desulfuricans (Taf. I, Fig. 1—4). | 119 | — — Corniculati (Opiz), Uredo- und Teleutosporen. | 792 |
| Mycogone puccinioides. | 698 | — Fabae auf Lathyrus montanus, Uredosporen. | 775 |
| Nectria (Eunectria) camerunensis. | 634 | — — auf Vicia Faba, Vicia Cracca und Lathyrus vernus. | 776 |
| Oidium Tuckeri, Ueberwinterungsformen. | 145 | | |
| Piricularia caudata. | 557 | | |
| Rhabdospora theobromae, Pykniden. | 552 | | |

IV. Neue Literatur.

29. 77. 110. 173. 238. 302. 363. 413. 476. 557. 588. 718.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

H12
523



3 2044 102 988 193

Digitized by Google

Original from
HARVARD UNIVERSITY